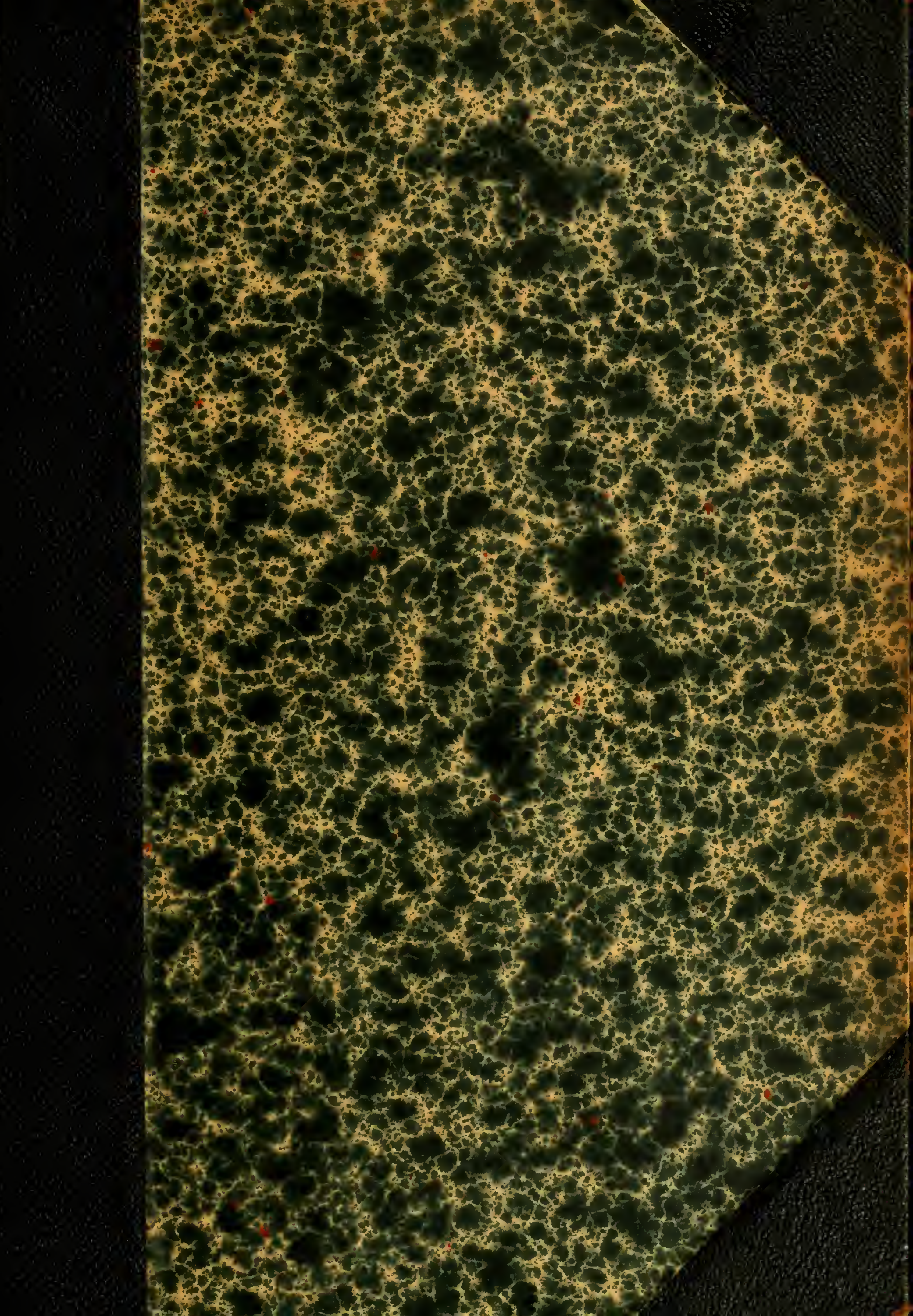


LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

FONDÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

PUBLIÉ PAR

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

TOME XXX

1er FASCICULE

Prix : 35 francs.

LIERRE
TYP. DE JOSEPH VAN IN & Cie,
Grand'place, 38.

LOUVAIN
A. UYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de la Monnaie.

1919

LA SPERMATOGÉNÈSE DANS LES MAMMIFÈRES.

III. Les spermatocytes leptotènes et amphitènes dans le Taureau

PAR

Lucien VAN HOOF,

CANDIDAT EN MÉDECINE.

(Mémoire déposé le 7 mars 1913.)

LA SPERMATOGÉNÈSE DANS LES MAMMIFÈRES

III. Les spermatocytes leptotènes et amphitènes dans le Taureau

INTRODUCTION.

Dans son travail sur la spermatogénèse du Taureau, SCHOENFELD (1901) a émis une hypothèse sur le mécanisme de la réduction basée sur des faits d'observation tout spéciaux qui n'ont été mentionnés que par lui, nous voulons parler des granulations quaternes des spermatocytes jeunes. On ne peut accorder qu'une valeur relative aux critiques formulées par les auteurs postérieurs à SCHOENFELD au sujet de cette idée, attendu que ceux-ci n'ont jamais fait que comparer aux observations faites chez le Taureau celles qu'ils avaient recueillies dans d'autres mammifères. Il semblait même que le Taureau méritât, de par cette étude, une place spéciale en dehors du schéma spermatogénétique assez général des Mammifères et que son mécanisme réductionnel revêtit une forme quelque peu aberrante. Porté à croire cependant qu'une observation minutieuse nous ferait retrouver ici comme ailleurs un processus dont l'unité est beaucoup plus probable que la diversité, nous avons entrepris d'en décrire les premières étapes. Mettant en pratique les idées que nous avons développées ailleurs au sujet de la technique de fixation et de coloration, nous avons tâché de nous procurer un matériel à l'abri de tout reproche. De petits morceaux de testicule de Taureau, prélevés aussitôt après l'abattage, ont été fixés dans diverses solutions, surtout dans celle de CARNOY. Les préparations ont été colorées à l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN. Grâce à ce procédé, les noyaux

synaptés sont rares; surtout à la périphérie des coupes les jeunes stades nous ont paru clairs et détaillés. Nous avons fait l'étude des jeunes spermatocytes le plus possible dans un seul et même tube séminifère poursuivi dans une série ininterrompue de préparations.

Nous essayerons dans cette courte notice de décrire aussi exactement que possible l'évolution des spermatocytes jeunes, d'apporter un nouvel argument en faveur de la théorie de l'accolement longitudinal des chromosomes dans les périodes lepto- et amphitène, que nous avons trouvées très démonstratives dans les testicules de Taureau bien fixés, et de déterminer par le fait même la signification exacte des granulations quaternes décrites par Schoenfeld.

Ce travail a été exécuté au Laboratoire de Cytologie et de Biologie de l'Institut Carnoy, Université de Louvain, et sous la direction de Monsieur le Professeur F. A. Janssens. Nous le prions d'agréer nos remercîments très sincères pour la bienveillance avec laquelle il a mis ses connaissances et son expérience à notre service.

§ I. Les petites spermatogonies.

Voulant étudier spécialement le premier développement des spermatocytes, nous avons remonté à la spermatogonie de second ordre. Ce qui la caractérise le mieux, c'est l'existence dans son noyau d'éléments filamenteux à côté de blocs chromatiques irréguliers et en relation avec eux, fig 1 et 2. Elle diffère beaucoup des spermatogonies-mères qui renferment dans leurs noyaux un ou plusieurs nucléoles bien arrondis et qui n'ont, sauf au moment des cinèses, aucun élément filamenteux nettement chromatique.

Cinèses des petites spermatogonies. Elles coïncident avec la période pachytène des spermatocytes et suivent de près l'expulsion des spermatozoïdes. Elles ressemblent beaucoup aux cinèses des grandes spermatogonies, mais sont de taille réduite. Nos fig. 3, 4, 5 et 6 représentent l'évolution de la prophase et l'apparition des chromosomes aux dépens des éléments chromatiques peu caractérisés de la spermatogonie. On remarquera dans la fig. 6 la fissuration longitudinale de ces chromosomes au moment de la métaphase; les éléments de la couronne équatoriale sont disposés, tantôt

par deux, tantôt par trois chromosomes clivés convergeant vers le centre de la figure.

Remarquons en passant que malgré nos recherches nous n'avons pu mettre en évidence dans ces spermatogonies les «cristalloïdes» qui, d'après MONTGOMERY (1911), devraient caractériser certaines d'entre elles dans les tubes séminifères de l'homme. Aux mêmes stades et dans les mêmes préparations nous les trouvons cependant comme un organite constant du protoplasme sertolien. A moins que ces cristalloïdes de la cellule de SERTOLI et ceux des spermatogonies ne soient microchimiquement distincts, nous ne pouvons donc pas accuser notre technique.

Quant au nombre de chromosomes mobilisés dans ces cinèses nous avons fait des recherches aussi précises que la clarté de ces objets le permettent. Dans des coupes de 20 μ, où les noyaux peuvent se trouver dans leur entier, nous avons compté quelquefois 20 ou 22 chromosomes, assez souvent 22, FIG. 6, ou 24, jamais plus de 24. Comme d'autre part, et d'accord avec SCHOENFELD, nous en avons compté 12 dans des couronnes équatoriales d'hétérotypies, nous croyons que le nombre 24 est très probablement le nombre normal de chromosomes du Taureau.

§ II. Les spermatocytes croûtelleux.

Après la cinèse des petites spermatogonies, les chromosomes télophasiques se trouvent disposés dans le nouveau noyau d'une manière typique. Comme le montre la FIG. 8, les V simples convergent par leurs pointes vers le centre du noyau très petit. Alors que ces chromosomes n'ont pas encore perdu leurs formes, on les retrouve peu après dispersés sans ordre, FIG. 9. A partir de ce moment le noyau subit un accroissement progressif et les gros filaments chromatiques qui l'occupent se mettent à confluer en se déformant, FIG. 10 et 11. Certains endroits des chromosomes s'amincissent, d'autres au contraire s'épaississent ou se rencontrent avec des voisins. Il en résulte bientôt des masses chromatiques considérables à côté de quelques éléments isolés ayant encore le caractère filamenteux, FIG. 12 et 13, et de fines travées à peine perceptibles et qui seraient de la linine. Quand les derniers vestiges de chromosomes ont disparu au profit des blocs chromatiques, on peut considérer les spermatocytes croûtelleux formés, FIG. 14.

Cette évolution rapide, dont nos figures donnent une idée plus claire que toute description, ne correspond en rien à celle que SCHOENFELD ex-

pose. Pour lui la masse chromatique télophasique se résoud en petits granules qui confluent ensuite pour former des scutelles surtout périphériques. Or, nous n'avons jamais trouvé ces éléments granuleux et, à notre avis, le terme « scutelles » est peu approprié pour désigner des masses colorables épaisses dont quelques-unes seulement touchent à la membrane nucléaire. (Cependant dans les spermatocytes croûtelleux du Rat, les blocs chromatiques s'étalent beaucoup plus sous cette membrane et méritent donc l'appellation de « scutelles » [Van Hoof, 1911]).

§ III. La période leptotène.

Les noyaux des spermatocytes croûtelleux renferment donc des blocs irréguliers très chromatiques que nous considérons comme des chromoplastes, *chr*, suivant les idées de Janssens (1905) et une sorte de réseau achromatique difficile à déchiffrer ([1]), fig. **14**. Très rapidement s'annoncent les transformations de ce noyau en noyau leptotène et il semble qu'elles suivent le même processus que celui que nous avons décrit dans le Rat et signalé dans le Chien (Van Hoof, 1912). La fig. **15** donne une idée de la première étape de constitution des chromosomes leptotènes. L'appareil achromatique a fait place à des travées en apparence assez solidaires les unes des autres et sidérophiles. Les chromoplastes, *chr*, ont perdu leurs contours nets, et font corps commun avec de vrais filaments entortillés bien colorés et que l'on peut même poursuivre à l'intérieur de leur masse. Ils semblent aussi se dévider et ils perdent progressivement leur opacité. L'enchylème nucléaire est chargé d'un peu de chromatine diffuse. Plus tard, dans un noyau légèrement grandi, ces caractères s'accentuent, fig. **16**. L'enchylème nucléaire est très sombre, et on y distingue, outre de minces filaments encore assez entortillés, des endroits plus obscurs où les chromosomes leptotènes n'ont pas encore pu se dévider complètement et qui sont les vestiges des blocs chromatiques. Seul persiste un gros nucléole (12) accolé à la membrane du noyau et très sidérophile.

Il ne faut plus alors que de légères modifications pour que nous ayons le spermatocyte leptotène typique. L'enchylème nucléaire s'éclaircit et les chromosomes nouvellement formés, bien qu'ils soient encore très tortueux,

---

([1]) Comme nous le répéterons plus loin, ces éléments filamenteux achromatiques sont si inconstants, leurs variations sont tellement soumises au genre de fixation employé, qu'ils nous semblent être assez souvent des « Artefacts » dûs à l'action coagulante des réactifs sur l'enchylème nucléaire.

se caractérisent avec netteté, FIG. 17; en quelques endroits de plus en plus rares ils sont cependant encore embrouillés et il est difficile de les y poursuivre sans les confondre avec leurs voisins. Dans la FIG. 18 il ne reste plus qu'un seul de ces vestiges de chromoplastes et les chromosomes sont plus épais et plus nets et, de même que dans la FIG. 19, on remarquera que les bouts libres des filaments ont une tendance marquée à s'orienter.

Il se fait ainsi que suivant l incidence du rayon visuel les chromosomes leptoténiens paraissent disposés, tantôt sans ordre aucun, FIG. 20 *b*, 21, tantôt suivant l'aspect caractéristique du bouquet, FIG. 19, 20 *a*. Les chromosomes ont donc changé progressivement d'aspect. Grêles et tortueux peu auparavant ils se sont épaissis au fur et à mesure que l'enchylème s'éclaircissait et que les derniers restes des chromoplastes disparaissaient. On trouve souvent plusieurs nucléoles disposés sans ordre dans le bouquet et qui n'en sont pas indépendants : ils sont probablement aussi des vestiges des blocs chromatiques.

Localisation de cette période.

Le faible accroissement du noyau à cette période et aux suivantes coïncide avec une grande célérité des transformations chromatiques. Parallèlement à celles-ci l'évolution des spermies se poursuit activement. Dès le début de cette période paraissent les premiers indices de la fissuration strepsiténique et l idiosome des spermies se différencie et donne naissance au filament axial. Lorsque le bouquet leptotène est achevé, les spermatides situées au-dessus de ces noyaux forment un capuchon céphalique, et leurs manchettes ne commencent à se dessiner que quand l'amphitène se caractérise avec évidence.

Se préparant à cette période importante, les anses chromatiques des noyaux leptotènes viennent se ranger plus ou moins parallèlement les unes aux autres surtout en un pôle du noyau correspondant aux bouts libres des anses, FIG. 20 *a*, 24, 25, 26, et même aux courbes des anses éloignées de ce pôle, FIG. 22, 23. Remarquons que dans les FIG. 25 et 26 quelques éléments chromatiques ressemblent à des granulations quaternes et ne sont autre chose que des parties symétriquement épaissies d'anses leptotènes accouplées : ce sont là les premiers indices de l'amphitène. On peut aussi rencontrer des cas exceptionnels où les noyaux leptotènes retardataires accompagnent des amphitènes nets dans des épithéliums plus âgés. Il faut

attribuer cela à des juxtapositions des spires de la bande hélicoïdale qui forme le tube séminifère d'après les idées de Regaud (1901). Ce cas indique l'activité intense du travail spermatogénétique à cette période, puisque la place occupée par elle peut être inférieure à un tour de spire.

§ IV. La période amphitène.

Localisation de cette periode.

Elle se caractérise avec évidence au même stade où les capuchons céphaliques des spermies se détachent et disparaissent, alors que leurs têtes sont peu colorées et leurs manchettes distinctes. Associés à ces éléments on trouve encore des spermatocytes I âgés au début du strepsinéma, fig. **37**, que l'on peut nettement identifier par la présence d'un corps chromatoïde.

Dans les noyaux des jeunes spermatocytes, les fins chromosomes ont déjà commencé à s'accoler au niveau de leurs bouts libres, fig. **25** et **26**. Il résulte de cette modification des anses multiples et ténues occupant un pôle du noyau et se terminant toutes au pôle opposé par des appariements où la soudure n'est pas encore complète.

Graduellement les anses se fusionnent suivant toute leur longueur et les chromosomes doubles ainsi formés se raccourcissent et s'épaississent. Nous trouvons donc des dualités chromosomiales évidentes et d'un aspect tout spécial, fig. **27**, **28** et **29**. Le long des filaments accouplés apparaissent des granulations assez considérables. Ces granulations ou épaississements sont situés symétriquement de filament à filament. Souvent deux couples de ces granules se rapprochent suivant la longueur d'une paire de filaments et donnent l'illusion d'une tétrade, d'un granule quaterne compris dans cette paire. Cette disposition n'existe qu'à condition que l'amphitène soit achevé, c'est-à-dire que les chromosomes leptotènes qui, appairés, constituent l'anse amphitène soient très rapprochés l'un de l'autre, pour qu'une relation puisse physiquement s'établir entre eux.

Le lecteur constatera que certaines des dualités des fig. **27**, **28** et **29** (marquées I) ne remplissent pas cette condition et que par conséquent leurs deux moitiés longitudinales ont gardé l'aspèct du filament leptotène, ténu et dépourvu d'épaississements.

Lorsque la fixation est bonne, cette structure toute spéciale est bien évidente, FIG. 30. Nous nous trouvons donc en présence, non pas de granules quadrijumeaux enfilés sur un filament, mais de *filaments appairés et portant symétriquement des épaississements*. En outre, les chromosomes subissent encore des coudures brusques et nombreuses, et entre les groupements quaternes les parties intermédiaires du chromosome sont très peu colorables, FIG. 31 et 32. Il se peut ainsi qu'à première vue l'observateur se croie en présence de tétrades nageant librement dans le noyau. Mais en faisant varier en profondeur la mise au point du microscope on se rend facilement compte que les granulations quaternes sont rattachées les unes aux autres pour former par leur ensemble des filaments très réels. On remarquera aussi que les épaississements symétriques ne sont pas toujours régulièrement rapprochés en tétrades; on trouve fréquemment des groupes de 2, de 6 et de 8 granules. Il se pourrait que par la formation de ces épaississements la chromatine des tronçons chromosomiaux qui retient l'un granule quaterne à l'autre ait considérablement diminué au profit de ces derniers. Jamais nous n'avons pu individualiser dans le noyau des granules quadrijumeaux véritablement isolés en grand nombre, puis enfilés sur un filament unique, suivant le type décrit par SCHOENFELD.

Pendant que dans le voisinage les grandes spermatogonies entrent en cinèse, cette évolution intéressante de l'amphitène s'achève : les filaments chromatiques deviennent plus réguliers, la trace de l'accolement, c'est-à-dire le sillon clair longitudinal, s'atténue, FIG. 33 et 34. La disposition générale des chromosomes en anses orientées persiste avec évidence, FIG. 34, et les bouts libres de ces anses regardent la sphère où se trouvent deux petits centrioles. Ainsi se constituent les noyaux pachytènes à bouquet bien orienté qui occupent une grande longueur du tube séminifère, FIG. 35 et 36, et le strepsinéma, FIG. 37, ne débutera que lors de l'évolution à la période leptotène d'une nouvelle génération de spermatocytes.

Discussion des résultats.

Le lecteur aura remarqué que dans la description qui précède, nous n'avons pas signalé la présence de synapsis dans les spermatocytes du Taureau. C'est que, en choisissant avec soin les parties périphériques les mieux fixées de nos préparations, nous avons pu éviter les aspects coagulés d'observation difficile et que nous avons jugés artificiels dans un mémoire précédent (VAN HOOF, 1912). La zone synaptée, observée dans les parties

mal fixées, est assez limitée. D'accord avec Swaen et Masquelin (1885) et Schoenfeld (1901), nous la situons aux environs et pendant la période amphitène (noyaux à granules quaternes).

De même que Schoenfeld nous admettons que, après la cinèse des petites spermatogonies, les jeunes spermatocytes forment des éléments assez semblables aux spermatogonies croûtelleuses. Mais à partir de là nos idées diffèrent considérablement. Les spermatocytes du type *a* de Schoenfeld sont synaptés, et de la masse du coagulum se détachent des filaments chargés de granulations et reliés aux granules de la surface nucléaire, qui proviennent de la désagrégation des scutelles périphériques. Dans le spermatocyte du type *b* ces filaments chargés de granules et convergeant vers la masse synaptique centrale se présentent, tantôt parallèles, tantôt en Y; dans ce dernier cas « il s'agit d'une fusion de deux filaments voisins ».

Il nous semble qu'une très mauvaise fixation peut seule avoir fourni ces images à l'auteur : l'agglutination des chromoplastes au centre du noyau à une époque encore éloignée du synapsis typique en témoigne. Il se pourrait aussi que ces noyaux correspondent déjà à ceux que nous avons désignés du nom de leptotènes, mais avec coexistence de tassement synaptique; ce que l'auteur désigne comme filaments de linine se fusionnant longitudinalement ne serait autre chose que de vrais chromosomes évoluant vers l'accolement de l'amphitène. En dehors des filaments de linine chargés de granulations chromophiles, l'auteur n'a remarqué à cette période aucun élément chromosomial. Nous avons observé au contraire au début de la période auxocytaire l'évolution très caractéristique des filaments chromatiques aux dépens des blocs chromatiques, qui, loin de s'agglutiner ou de se « synapter », se désagrègent individuellement et ne donnent pas naissance à des granules, mais se dévident en chromosomes. A moins que, comme nous le dirons plus loin, Schoenfeld n'ait confondu le leptotène avec le pachytène en le plaçant postérieurement aux noyaux à granules quaternes dans ses fig. 21 à 23, planche II, il n'a donc pas décrit cette période, que nous avons trouvée cependant claire et facile à mettre en évidence.

Nous ne pouvons admettre comme très réels les *filaments de linine* de cet auteur; nous croyons volontiers à un défaut dans la fixation ou la coloration, qui lui a fait prendre souvent des chromosomes pour des filaments achromatiques, de même qu'il a donné une signification plasmatique aux

grands nucléoles cependant très sidérophiles des cellules indifférentes. Que le lecteur ne se persuade cependant pas que nous ne reconnaissons aucun élément achromatique dans les noyaux des spermatocytes. On peut observer quelquefois, soit des sortes de réseaux achromatiques où les organites nucléaires colorables sont suspendus, soit des filaments ténus reliant ces divers corps entre eux. Leur coloration est difficile, leur étude malaisée, leur aspect variable selon la méthode de fixation employée; leur évolution n'amène rien de nouveau, rien de bien intéressant dans les modifications actives qui transforment la chromatine. Leur faible quantité et leur inconstance nous engagent à ne pas leur attribuer trop d'importance, d'autant plus que nous nous demandons encore si la linine n'est pas un produit de l'action des fixateurs ayant précipité l'enchylème nucléaire.

Les spermatocytes du type *c* de SCHOENFELD sont constitués au centre par un « réticulum presque indéchiffrable formé par l'entrecroisement et l'anastomose des filaments centrifuges » et à la périphérie par des granules qui, par double division ou par simple juxtaposition, sont devenus quadrijumeaux.

Par la disparition des filaments se forme ensuite le spermatocyte du type *d* : les granules quadrijumeaux, d'abord périphériques, se déplacent ensuite vers un pôle du noyau sous l'influence de l'archoplasme. Dans les cellules du type *e*, les groupes quaternes se libèrent de la masse synaptique et se placent en file, leurs centres étant dans la direction les uns des autres. Un filament d'abord achromatique se dessine entre eux, puis se charge de chromatine, il en résulte « un spirème fendillé en quatre segments par double division longitudinale ». Enfin les granules diminuent et disparaissent au profit du filament achromatique.

Il semble bien difficile de concilier cette manière de voir avec la nôtre. Comme nous l'avons dit, SCHOENFELD ne mentionne pas les chromosomes nets de la période leptotène, et leur juxtaposition deux par deux en vue de l'accolement longitudinal. Il omet cette période, mais on la retrouve dans les figures de ses spermatocytes du type *b* à filaments appairés ou en Y ou de ses spermatocytes du type *f* qu'il place plus loin. Il passe immédiatement aux cellules à granules quaternes qui sont, avons-nous dit, des noyaux amphitènes. La grande divergence de vues qui existe entre SCHOENFELD et nous, réside dans le fait de l'indépendance des groupes quaternes affirmée par cet auteur, et d'autre part leur relation intime avec le chromosome lep-

totène en même temps que leur formation aux dépens de ce dernier que nous avons défendues.

D'après Schoenfeld le granule quaterne forme le chromosome; d'après nous le chromosome forme le granule quaterne.

Tout le mécanisme de la genèse du chromosome aux dépens des granules quadrijumeaux n'est qu'une fragile hypothèse où le synapsis et la centrotaxie jouent un grand rôle. Le point capital à élucider est la nature et l'origine du trait d'union, chromatique d'après nous, qui reliera les granules. D'après Schoenfeld c'est un nouvel élément, un filament achromatique sur lequel ils s'enchaînent; d'après nous le trait d'union est antérieur aux granules, c'est le chromosome leptotène, donc un filament nettement *chromatique*, aux dépens duquel se formeront des épaississements symétriques pendant l'accolement longitudinal. Le chromosome qui en résulte est pour Schoenfeld formé de quatre éléments juxtaposés; pour nous il constitue une dualité régulièrement granuleuse.

Nous apportons comme arguments en faveur de cette idée nos dessins et nos observations faits également dans les meilleures conditions que nous ayons pu réaliser. De plus, nous appelons l'attention du lecteur sur un fait assez démonstratif que nous fournissent les dessins de Schoenfeld : par la juxtaposition de gros granules en quadruple rangée il n'obtient dans ses noyaux pachytènes qu'un filament bien ténu. D'autre part un spirème composé de quatre filaments juxtaposés peut se montrer sous divers angles et présenter en projection l'apparence tantôt de deux, tantôt de trois filaments juxtaposés. Or, de tels aspects n'apparaissent jamais, ni dans les dessins de Schoenfeld, ni dans les nôtres, ni surtout dans l'objet examiné avec les meilleures lentilles.

La numération des granules quadrijumeaux ne nous a apporté aucun éclaircissement nouveau concernant leur signification. Rappelons à ce sujet que Schoenfeld en a signalé de 38 à 45. Nous avons fait des recherches à la chambre claire dans des préparations d'une épaisseur de 20 μ, nous avons compté les paires de granules et divisé nos résultats par deux et obtenu de cette façon les chiffres extrêmes de 24 à 40 granulations quadrijumelles, en moyenne 29 à 30. Ces nombres n'ont aucun rapport intéressant avec celui des chromosomes des cinèses somatiques ou de maturation. Il nous montre simplement que les 12 chromosomes réductionnels de ces noyaux ne peuvent comporter en moyenne que de 2 à 3 tétrades. Or, nous trouvons rarement

des chromosomes faits d'une seule tétrade, plus souvent des chromosomes de quatre granules quaternes et plus.

Quelle est donc la signification des granules quadrijumeaux, ou plus exactement des épaississements symétriques ?

Au point de vue morphologique ces épaississements établissent fréquemment des rapports d'un chromosome à l'autre : ils semblent fréquemment confluer, FIG. 28 à 32. Mais nous ne pouvons voir au-delà de l'observation microscopique, et il se peut que ces relations soient une manifestation d'un processus d'échanges importants au point de vue de l'hérédité et qui resteront peut-être longtemps mystérieux. En même temps que le pachytène s'accentue, les granules perdent leur netteté et se confondent avec le reste du chromosome et avec le chromosome accolé, FIG. 33 à 35. Pendant la période pachytène il ne restera que peu de traces de ces épaississements, mais plus tard, quand le strepsinéma sera bien accentué, les chromosomes produits par cette fissuration seront fréquemment moniliformes (SCHOENFELD, 1901, fig. 25 à 27, planche II) et cela d'une manière symétrique pour les deux moitiés du chromosome fissuré. REGAUD (1910) a objecté aux figures que SCHOENFELD reproduit de cette étape spermatogénétique le défaut de ne pas suivre dans leur accroissement une progression parallèle à leur âge : les fig. 21, 22 et 23, planche II, sont notablement plus petites que la fig. 20, *a* ; les premières représentent des spermatocytes du type *f*, les secondes des cellules du type *e*. Remarquons d'autre part que dans nos figures la progression de taille est faible, mais existe ; et que la série de figures de SCHOENFELD correspondrait beaucoup mieux à la nôtre si les fig. 21, 22, 23 de cet auteur étaient placées avant la fig. 17, comme spermatocytes »leptotènes«. Faut-il conclure que l'auteur n'a pas tenu un compte assez scrupuleux de l'âge du tube séminifère où il a relevé ces figures? Cela se peut, et nous affirmons à cette occasion que nous avons établi très soigneusement les âges respectifs de nos dessins, de peur de tomber dans une semblable erreur ; et si cette hypothèse est vraie, SCHOENFELD aurait donc représenté des noyaux leptotènes sous le titre de pachytènes jeunes et les vrais pachytènes à filaments épais, fig. 23 *b*, planche I, comme des stades avancés des noyaux à chromosomes antérieurement ténus et tassés. En corrigeant dans ce sens la série de ses figures, la progression de croissance devient parfaitement vraisemblable. Une telle erreur est encore excusable, l'évolution de ces éléments est si rapide que les spermies du tube séminifère ne sont plus que des jalons très vagues.

Nous avons trouvé que le moyen le plus sûr d'y remédier était de choisir un tube séminifère s'étendant sur une grande longueur dans la préparation, et, connaissant ainsi facilement le sens du développement de l'épithélium, nous sommes sûr de la justesse de notre série.

La période finale de l'amphitène que nos FIG. **33** et **34** représentent et que caractérise l'atténuation des épaississements symétriques au profit des parties intermédiaires des chromosomes et l'achèvement de la soudure longitudinale, échappe donc à SCHOENFELD, pour qui du spermatocyte à groupes quadrijumeaux au spermatocyte pachytène synapté il n'y a plus de transition. Bref, d'après ce qui précède, dans la description de cet auteur, l'omission de certains types caractéristiques de spermatocytes, des défauts dans la technique et peut-être une erreur dans la sériation de la lignée séminale ont été à la base d'une hypothèse que nous ne pouvons donc admettre.

Enfin, l'accentuation de ces épaississements symétriques dans les spermatocytes du Taureau pourrait faire croire que cet animal possède là un caractère différentiel d'avec les autres mammifères. Rappelons donc en terminant que BRAUER (1893) [1] les a signalés dans l'*Ascaris*, GRÉGOIRE (1899) dans les Lis et que nous les avons observés et dessinés avec assez bien de netteté dans le Rat (VAN HOOF, 1892, fig. 011-21, 011-22, Planche I). BENDA (1906) n'admet pas les granulations en tétrades, même pas chez le Taureau. Nous nous rangeons certes à cet avis tout en admettant que les épaississements symétriques et constants peuvent simuler des groupements quaternes. Ceux-ci sont pour SCHOENFELD des organites destinés à devenir une partie de spirème; pour nous au contraire ils sont un simple accident chromatique de l'anse lepto-amphitène en évolution.

---

[1] Cité par SCHOENFELD.

CONCLUSIONS.

1. Pour ce qui regarde les étapes de la spermatogénèse que nous venons d'étudier, le Taureau se range dans le schéma probablement général des Mammifères, tel que nous l'avons exposé précédemment dans le Rat.

2. La plus grande partie de la masse chromosomiale télophasique des cinèses des spermatogonies de 2me ordre s'agglutine pour former les chromoplastes des spermatocytes croûtelleux. Ces chromoplastes ne se désagrègent pas en granules, mais des filaments apparaissent dans les blocs chromatiques comme s'y étant formés et comme partie intégrante de ces organites, et s'en libérant au début de la période leptotène.

3. Il existe des noyaux amphitènes où les chromosomes minces s'accolent longitudinalement pour former les anses pachytènes.

4. Des épaississements chromatiques apparaissent d'une manière constante et symétriquement de filament à filament sur les chromosomes appairés des anses amphitènes, simulant parfois des groupes quaternes.

5. Le synapsis n'empâte par les noyaux leptotènes et amphitènes bien fixés.

BIBLIOGRAPHIE.

1906 *Benda, C.* : Die Spermiogenese der Monotremen. SEMON's Zool. Forschung. in Austr Fischer, Jena.

1893 *Brauer, A.* : Zur Kenntnis der Spermatog. von *Ascaris megalocephala:* Arch. f. mikr. Anat., Bd. 42.

1899 *Grégoire, V* : Les cinèses polliniques dans les Liliacées; La Cellule, XVI.

1905 *Janssens, F. A.* : Évolution des auxocytes mâles du *Batrachoseps attenuatus:* La Cellule, XXII, fasc. 2.

1911 *Montgomery, Th. H.* : Différenciation of the human cells of SERTOLI; Biol. Bulletin, vol. XXI, nº 6.

1901 *Regaud, Cl.* : Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les Mammifères; Arch. d'anat. micros., t. IV, fasc. I, II, III.

1910 » Idem; Arch. d'anat. micros., t. XI, fasc. II et III.

1901 *Schoenfeld, H.* : La spermatogénèse chez le Taureau; Arch. de Biol., t. XVIII, fasc. I.

1885 *Swaen et Masquelin* : Études sur la spermatogénèse; Arch. de Biol., t. IV.

1912 *Van Hoof, L.* : La spermatogénèse dans les Mammifères. I. L'évolution de l'élément chromatique dans la spermatogénèse du Rat; La Cellule, t. XXVII, 2d fasc.

1912 » Idem. II. Le synapsis dans les spermatocytes des Mammifères; La Cellule, t. XXVII, 2d fasc.

EXPLICATION DES FIGURES.

Ces dessins ont été exécutés au moyen de la chambre claire de ABBE-APATHY, *à la hauteur de la table de travail. Microscope* KORISTKA, *object. imm. homog. 1/15 semi-apochr. et ocul. compens. 12.*

FIG. **1**. Petite spermatogonie déjà assez proche de la cinèse.

FIG. **2**. Petite spermatogonie se préparant à la prophase.

FIG. **3** et **4**. Idem : les chromosomes qui prendront part à la cinèse se dégagent des masses chromatiques.

FIG. **5**. Prophase.

FIG. **6**. Idem, schématique. Sauf deux, tous les chromosomes ont été représentés.

FIG. **7**. Métaphase à chromosomes clivés.

FIG. **8**. Télophase : **V** simples convergeant par leurs pointes vers le centre du noyau.

FIG. **9**. Jeune spermatocyte : les chromosomes télophasiques ont perdu l'ordonnance précédente.

FIG. **10**. Idem : les chromosomes commencent à se déformer et à confluer.

FIG. **11**. Idem.

FIG. **12**. Idem : des chromoplastes importants sont déjà formés.

FIG. **13**. Idem : les chromoplastes s'achèvent. il n'y a plus que quelque vestiges de chromosomes. Quelques éléments de linine.

FIG. **14**. Jeune spermatocyte croûtelleux. *chr* = chromoplaste.

FIG. **15**. Début de la désagrégation des blocs chromatiques en leurs dérivés filamenteux : origine du chromosome leptotène. Enchylème nucléaire légèrement assombri. *chr* = chromoplaste; *n* = nucléole.

FIG. **16**. Achèvement de cette transformation. L'enchylème nucléaire est très obscur. *chr* = chromoplaste ; *n* = nucléole.

FIG. **17**. Noyau leptotène à filaments grêles et tortueux, contenant encore des masses imparfaitement désagrégées. L'enchylème nucléaire est clair. *chr* = chromoplaste.

FIG. **18**. Noyau leptotène plus avancé. *chr* = chromoplaste.

FIG. **19**. Fragment de noyau leptotène où s'indique une orientation.

FIG. **20**. *a)* Bouquet leptotène orienté. Quelques anses parallèles.
b) Fragment de noyau leptotène.

FIG. **21**. Noyau leptotène. Les bouts libres des anses commencent à s'appairer.

FIG. **22**. Des appariements se dessinent aux courbes des anses.

FIG. **23**. Idem.

FIG. **24**. Bouquet leptotène, appariements en vue de l'accolement amphitène.

FIG. **25**. Idem.

FIG. **26**. Idem : quelques épaississements symétriques aux bouts libres appairés.

FIG. **27**. Spermatocyte amphitène. Des épaississements symétriques apparaissent sur plusieurs paires de chromosomes où ceux-ci sont le plus rapprochés. Dans d'autres *(b)* ils font défaut.

FIG. **28**. Fragment de noyau amphitène : « granules quadrijumeaux ». *l*, fragment de dualité dont les éléments peu rapprochés sont dépourvus de granulations.

FIG. **29**. Idem : les épaississements symétriques font défaut là où les chromosomes sont peu rapprochés.

FIG. **30**. Spermatocyte amphitène à filaments granuleux.

FIG. **31**. Idem.

FIG. **32**. Idem.

FIG. **33**. Fragment de noyau amphitène : début de la fusion des filaments accolés.

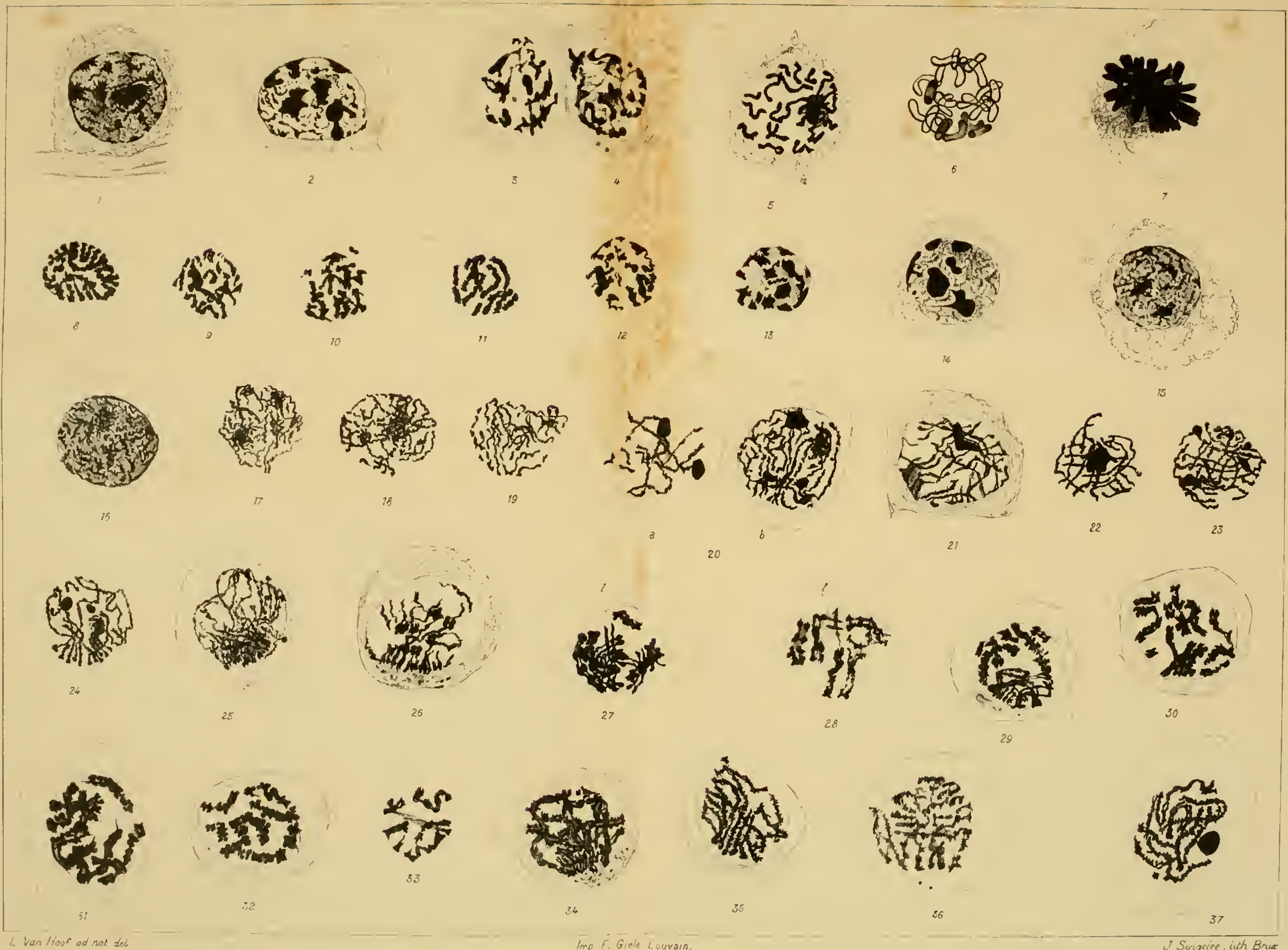
FIG. **34**. Achèvement de la période amphitène : les épaississements symétriques s'atténuent et les filaments accouplés se soudent.

FIG. **35**. Spermatocyte pachytène.

FIG. **36**. Spermatocyte pachytène à un âge plus avancé.

FIG. **37**. Début du strepsinéma.

TABLE DES MATIÈRES.



L. Van Hoof ad nat. del. — Imp. F. Giele Louvain. — J. Sury... lith. Brux.

Réseau protoplasmique et chondriosomes dans la genèse des myofibrilles

PAR

P. GAUDISSART,

CANDIDAT EN MÉDECINE.

INSTITUT CARNOY, LOUVAIN. — LABORATOIRE DU PROF. V. GRÉGOIRE.

(Mémoire déposé le 15 juin 1913.)

Réseau protoplasmique et chondriosomes dans la genèse des myofibrilles.

Les auteurs qui ont étudié la genèse des myofibrilles les font provenir d'une différenciation subie par des éléments plasmatiques. Mais il règne une assez grande divergence d'interprétation.

On peut, pensons-nous, grouper les opinions en deux catégories.

Pour certains auteurs, ce serait une structure fondamentale du protoplasme, soit réticulaire, soit alvéolaire, qui, par l'orientation et la modification de ses travées ou de ses lamelles, fournirait les fibrilles musculaires. Pour Carnoy (84) et Van Gehuchten (86), Heidenhain (99) et Prenant (04-11), la structure protoplasmatique qui entrerait ici en jeu serait un réseau. Pour Bütschli et Schewiakoff (91), il s'agit au contraire d'un système alvéolaire. Mais, alors que Van Gehuchten et Carnoy décrivent, même dans la fibre musculaire adulte, la persistance d'un réseau et expliquent par là la striation, les autres auteurs que nous venons de citer pensent que la fibre musculaire ne contient que des fibrilles indépendantes, juxtaposées, et elles-mêmes striées, ainsi que le décrivent d'ailleurs la majorité des histologistes modernes.

Une seconde catégorie d'auteurs fait intervenir dans la genèse des structures musculaires un élément granulaire; mais dans cette interprétation générale il faut distinguer deux tendances, d'après la conception que les auteurs se font au sujet des granules qui interviendraient dans la fibrillogénèse.

Tandis que Godlewski (02) et Mlodowska (08) ne précisent pas davantage la valeur de ces corpuscules et disent simplement qu'ils se rangent sur des filaments, comme des perles sur un fil (Mlodowska), d'autres histologistes au contraire ont attribué à ces corpuscules une valeur mitochondriale et ont émis des conceptions de plus en plus nettes concernant leur rôle dans la fibrillogénèse.

Benda (99) qui, le premier, étudiant les muscles de la queue de la salamandre, mentionne les mitochondries, admet que celles-ci, se déposant sur des filaments — dont l'auteur n'indique pas l'origine, — forment ainsi les disques anisotropes des fibrilles.

Meves (07-07-09) va plus loin : sans décrire d'une façon détaillée les phénomènes, il attribue à l'élément mitochondrial un rôle *exclusif* dans la genèse des myofibrilles, comme d'ailleurs dans la genèse de toutes les structures fibrillaires en général. A. Schockaert (08), sans entrer non plus dans les détails, adopte, avec des modifications secondaires, cette manière de voir, et l'applique au myocarde.

Meves n'avait publié aucune figure touchant cette question; c'est Duesberg (09), qui, en précisant la conception de Meves, s'efforça de la démontrer. Prenant le myoblaste à ses débuts, il le suit jusqu'à sa différenciation complète. Il décrit les chondriosomes, d'abord isolés et assez courts, s'allongeant graduellement au fur et à mesure que s'allonge le myoblaste. Les fibrilles homogènes ainsi formées se différencient en fibrilles striées, par suite d'un ramassement régulier de la substance mitochondriale en certains points de la fibrille.

Tandis que Leplat (11) et Luna (13) se sont rangés à l'interprétation de Duesberg, Levi (12), au contraire, s'est prononcé contre elle. L'auteur s'en tient d'ailleurs à des conclusions négatives. Ayant établi que le nombre des chondriosomes est sensiblement le même dans les cellules embryonnaires et dans les cellules musculaires adultes, il conclut que ces corpuscules n'ont pas, dans la fibrillogénèse, le rôle que leur attribue Duesberg.

D'après ce que nous venons de dire, on peut résumer dans les questions suivantes les points qui, concernant la *première origine* des myofibrilles, demandent de nouvelles études : ces éléments proviennent-ils *exclusivement* d'une structure, soit alvéolaire, soit réticulaire, du protoplasme, comme le prétendent les auteurs de la première catégorie; ou bien des granules prennent-ils une part à leur formation, ainsi que l'entendent les autres auteurs? Si cette dernière hypothèse est la vraie, quelle est la nature de ces granules? sont-ils, ou non, mitochondriaux? Enfin ne pourrait-on admettre dans la première origine des fibrilles musculaires une collaboration de deux éléments : un élément réticulaire ou alvéolaire et un élément granulaire?

Les recherches que nous avons entreprises sur la genèse des myofibrilles nous permettent d'apporter sinon une réponse complète à ces questions, du moins des éléments de solution que nous croyons nouveaux. Comme

le problème présent est fort débattu, nous avons jugé utile de faire connaître nos résultats, concernant la *première origine* des myofibrilles, avant même d'avoir achevé nos recherches sur la différenciation de la fibrille striée définitive.

C'est à l'inspiration de M. le Professeur GRÉGOIRE que nous avons entrepris ces recherches. Si nos efforts n'ont pas été tout à fait infructueux, malgré la difficulté de la question, c'est à la savante direction, aux conseils éclairés de notre dévoué Maître que nous le devons. Aussi tenons-nous à lui témoigner ici le respectueux hommage de notre profonde gratitude.

Méthodes.

Toutes nos observations ont porté sur des embryons de poulet.

Les réactifs employés ont été :

1) le liquide de REGAUD IV :

Formol commercial 20 cm^3.
Bichromate de potasse à 3 % 80 cm^3.

Le fixateur, conservé à l'abri de la lumière, était remplacé chaque jour par de la liqueur fraichement préparée, et cela pendant une semaine.

2) Le BENDA (formule modifiée de MEVES) :

Ac. chromique 1 % 60 cm^3.
Ac. osmique 2 % 16 cm^3.
Ac. acét. glac. 20 gouttes.

La durée de fixation était également de 6 à 7 jours.

Nous avons pris les précautions les plus minutieuses en vue d'assurer une bonne pénétration du liquide. A cet effet, les embryons enlevés de l'œuf étaient plongés encore vivants dans du réactif pur ou faiblement dilué. La membrane amniotique était immédiatement déchirée, et des incisions étaient pratiquées dans la région dorsale, afin de mettre les myotomes en contact immédiat avec le liquide.

Les pièces furent ensuite lavées pendant 24 heures, déshydratées, enrobées, coupées à 5 μ. Après avoir séjourné 24 heures dans l'alun à 3 %, à froid après le BENDA, à 35° après le REGAUD, elles furent plongées 24 heures dans l'hématoxyline de HEIDENHAIN, puis différenciées.

Les deux méthodes nous ayant fourni des résultats également satisfai-

sants, nous avons emprunté nos dessins indifféremment à l'une ou à l'autre de nos deux séries de préparations.

Nous n'avons d'ailleurs dessiné que des endroits présentant les caractères reconnus d'une bonne fixation « mitochondriale » : noyaux homogènes, chondriosomes non fragmentés.

DESCRIPTION DES PRÉPARATIONS.

Nous diviserons en stades [1] les processus de différenciation, et à chaque stade correspondra un dessin. Il va de soi que cette division n'a qu'une valeur purement descriptive.

Stade I. Fig. 1. Méthode de Benda.

Ce dessin représente une portion d'un myotome encore peu différencié. On y voit la bande de myoblastes dans toute son épaisseur.

Ce stade est caractérisé par la présence, dans le protoplasme, de deux éléments figurés :

a) Des *chondriosomes*, nombreux, courts, nettement colorés, non encore orientés dans le sens de l'axe de l'embryon. A côté de chondriosomes plus ou moins flexueux, présentant la forme ordinaire de ces éléments dans les cellules indifférentes, on en voit d'autres, de formes très particulières : certains sont infléchis en L, d'autres en U, d'autres encore en polygone ouvert. Toutes ces formes sont, en un mot, caractérisées par des coudures brusques, formant un angle, droit, aigu ou obtus. De plus, les extrémités libres de ces chondriosomes ne tranchent pas nettement sur le fond du protoplasme.

b) Par places, on voit se détacher, sur le fond du protoplasme, de petites plages réticulées; les mailles semblent formées de filaments, et non de lamelles, car, en maniant la vis micrométrique, on les voit disparaitre instantanément. Des mailles peuvent aussi apparaitre isolées. Leur forme est carrée, triangulaire ou polygonale; les contours en sont bien nets; de leurs angles partent parfois des filaments qui vont se perdre dans le protoplasme.

A côté des trabécules assez nettement dessinées sur le fond, on en ob-

---

(1) Nous n'avons pas fondé notre sériation des stades sur les durées d'incubation : nous avons observé, à ce point de vue, trop de variation. Nous avons plutôt tenu compte de la localisation des aspects dans un même embryon.

serve qui sont à peine visibles. Celles qui apparaissent clairement sont d'ailleurs elles-mêmes très pâles; leur teinte, jaunâtre, est très différente de la coloration des chondriosomes, et entre ces derniers éléments et le réseau, il y a toujours un contraste bien marqué.

Stade II. Fig. 2.

La figure provient de la coupe qui a fourni aussi la fig. 1, mais d'une partie plus antérieure de l'embryon. Les mailles du réseau, non encore orientées, sont plus nombreuses, plus grandes et plus visibles qu'au stade I.

Dans la partie moyenne de la figure, entre deux noyaux, on distingue une anse chondriosomale, à convexité dirigée vers le bas. Des deux extrémités de l'anse partent deux filaments qui aboutissent aux deux angles inférieurs d'une maille trapézoïdale à base supérieure. Des deux angles opposés du trapèze divergent deux filaments qui vont se perdre dans le protoplasme. La boucle de l'anse présente, du côté opposé, une formation analogue. Notons que l'élément réticulaire est d'autant plus coloré qu'il est plus proche des chondriosomes.

A droite et en dessous du noyau de droite, on voit plusieurs mailles d'une coloration aussi foncée que les chondriosomes. Sur le noyau de gauche, mais dans un plan supérieur, il y a une formation analogue : trois travées parallèles très colorées, réunies par de minces travées pâles, perpendiculaires aux trois premières. Enfin, en dessous du noyau de droite, on voit tout un réseau de mailles indépendantes, mais beaucoup plus grandes et plus visibles qu'au stade précédent.

Stade III. Fig. 3; même coupe, partie plus antérieure de l'embryon.

La figure représente un myoblaste isolé. Nous n'y avons reproduit qu'une partie de la structure protoplasmique. On y reconnaît très clairement le réseau des stades précédents, mais une disposition nouvelle apparaît ici : les mailles du réseau, plus développées et mieux définies que dans la fig. 2, sont maintenant nettement orientées suivant le grand axe du myo blaste.

Le nombre des chondriosomes isolés, indépendants, est très faible; d'autre part, les mailles présentent, surtout sur leurs travées longitudinales, des parties épaisses, allongées, manifestant la réaction caractéristique des chondriosomes et dont les dimensions ne diffèrent guère de celles des chondriosomes du début. L'apparence totale est celle d'un réseau encore peu

colorable sur lequel se trouvent fixés des chondriosomes, la distinction entre chondriosomes et réseau étant plus ou moins nette suivant les régions. Dans la partie inférieure de la figure, on voit encore des parties de réseau très minces et très pâles.

Stade IV. Fig. 4. Embryon plus âgé; fixation : Regaud IV.

L'orientation de toute la structure dans le sens longitudinal des myoblastes est maintenant tout à fait nettement accusée. En *a*, on voit une plage réticulée, encore irrégulière et dont les travées sont fortement colorables par les méthodes mitochondriales. Cette plage est très semblable à celles que l'on observe aux stades précédents, fig. 2, en haut. La portion de structure qui se trouve en *b* est fort intéressante. Ce sont des fibrilles, mais reliées en un réseau, ou mieux, un réseau à *longues mailles étirées*. En *c*, les fibrilles sont plus longues, plus indépendantes bien que rattachées aussi par places les unes aux autres. Elles portent des renflements étirés, irréguliers, qui retiennent l'hématoxyline comme les chondriosomes voisins.

Stade V. Fig. 5; autre coupe d'un même embryon; somite plus avancé.

La disposition générale ne diffère pas notablement de celle du stade précédent. On y remarque seulement que les fibrilles se dégagent de plus en plus du réseau et qu'elles sont mieux marquées. Toutefois les aspects réticulaires sont encore conservés en plusieurs points. Les tractus chromatiques que portent les fibrilles présentent ici aussi une ressemblance frappante avec les chondriosomes.

Stade VI. Fig. 6; même embryon.

On peut maintenant poursuivre de très longues fibrilles, réunies encore en de très longues mailles. Les tractus chromatiques, de réaction mitochondriale, ne sont plus si marqués que précédemment. L'ensemble des fibrilles prend ainsi un aspect plus lisse et plus régulier. Le protoplasme contient encore des chondriosomes isolés.

Stade VII. Fig. 7; même embryon.

Le progrès, par rapport au stade VI, consiste en ce que les fibrilles sont devenues plus indépendantes. En certains endroits, les anciennes con-

nexions réticulaires n'apparaissent plus que sous forme d'anastomoses amincies ou même brisées. Il est cependant impossible de méconnaître que les fibrilles représentent des parties, devenues prépondérantes, d'un réseau antérieur.

Dans les stades ultérieurs, les fibrilles sont devenues encore plus nettes. Nous n'avons pas représenté ces aspects. Nous avons seulement reproduit, dans la FIG. 8, une disposition que l'on observe à un stade assez avancé. On y trouve des fibrilles extrêmement longues, vivement colorables, manifestant déjà, à une extrémité, la formation des disques. Deux choses sont remarquables : d'abord, les deux fibrilles très distinctes de la partie gauche de la figure se rejoignent vers la droite en un point à partir duquel nous n'arrivons à distinguer qu'une fibrille unique; de même, à l'extrémité droite, la fibrille unique se prolonge par deux fibrilles et par un troisième filament. Ce sont là, nous parait-il, des restes de l'ancienne structure réticulaire. En second lieu, la partie gauche de la figure contient un bon nombre de fibrilles incolores visiblement reliées, par endroits, en de grandes mailles. Le protoplasme renferme encore des chondriosomes isolés.

INTERPRÉTATION.

Il sera utile d'énoncer dès le début l'interprétation à laquelle nous ont conduit nos recherches. Nous pensons que les fibrilles musculaires ne proviennent ni exclusivement d'un réseau plasmatique, ni exclusivement de mitochondries ou d'un autre élément granulaire, mais qu'elles résultent de la coopération de mitochondries avec une structure réticulaire, différente, du moins au moment où elle entre en jeu, des mitochondries elles-mêmes. C'est ce réseau, -- dont la valeur et la signification n'ont pas à nous occuper pour le moment, — qui, en s'orientant, fournit la première ébauche des fibrilles musculaires; mais, de leur côté, les mitochondries, en se fixant sur ce réseau, lui apportent certaines substances qui s'y incorporent et contribuent au développement des myofibrilles. C'est ce que nous allons établir.

A. *Rôle du réseau.*

Nous avons déjà vu, dans notre description, que le myoblaste, aux premiers stades, montre, outre les chondriosomes, des plages réticulaires, dont les travées, par leur coloration et leur forme, apparaissent bien distinctes de l'élément mitochondrial, FIG. 1 et 2.

Nos FIG. 1, 2, 3 nous ont aussi permis d'assister à la transformation graduelle de ce réseau : on y voit les mailles, d'abord petites, s'agrandir ensuite, puis s'orienter dans le sens de l'axe du myoblaste. Les FIG. 4, 5, 6, 7, montrent la progression ultérieure du phénomène; on y voit la structure réticulaire faire place peu à peu à une structure d'apparence fibrillaire. Nous voulons dire par là que seules les travées longitudinales, considérablement allongées et épaissies, demeurent nettement visibles.

Quelle est la valeur de ce réseau? Est-il réellement et dès son origine indépendant des mitochondries ou bien ne résulte-t-il pas plutôt d'une transformation d'éléments mitochondriaux qui, en s'anastomosant et se décolorant, donneraient naissance à une structure réticulaire? Nous reviendrons plus loin sur cette question, mais dès maintenant nous pouvons dire qu'une chose nous paraît certaine, c'est que le réseau représenté par nos FIG. 1 et 2 ne provient pas d'une transformation qui se produirait, *en ce moment*, dans les chondriosomes. Réseau et chondriosomes sont, en effet, à ce stade, deux choses nettement distinctes par leur coloration et leur épaisseur. Nulle part on ne décèle de transition entre les deux formations, telle que serait par exemple un réseau formé de chondriosomes devenus plus minces et moins colorables. Par conséquent, si le réseau dont nous parlons est d'origine mitochondriale, c'est à un stade plus précoce, antérieur au stade où nous sommes, qu'il faudrait rechercher les phénomènes de sa production.

B. *Rôle des chondriosomes.*

Que les chondriosomes, de leur côté, prennent part à la fibrillogénèse, c'est ce qui nous paraît aussi assez clair dans nos préparations. Il nous semble que les formes manifestées par les chondriosomes au début de la fibrillogénèse ne peuvent s'interpréter que par des relations qu'ils contractent avec le réseau plasmatique en train de s'orienter. Dans notre FIG. 1, les chondriosomes ne présentent pas les allures typiques de ces éléments dans les cellules ordinaires, tels qu'on les observe dans la FIG. 9 par exemple, empruntée à un tube du corps de WOLFF. Les chondriosomes de la FIG. 1 sont en effet coudés, parfois à deux reprises. Puisque, ainsi que nous l'avons vu plus haut, la FIG. 2 montre deux éléments distincts, réseau et chondriosomes, et non pas un réseau chondriosomique en voie de décoloration, les formes de la FIG. 1, qui précèdent immédiatement le stade de la FIG. 2, ne peuvent s'expliquer qu'en admettant que les chondriosomes se

moulent sur un réseau indépendant d'eux-mêmes. Ajoutons une remarque : le fait que, dans des préparations analogues, les cellules du corps de WOLFF renferment des chondriosomes typiques prouve que la disposition mitochondriale que nous invoquons ici n'est pas due à la fixation.

L'intervention des mitochondries apparait plus clairement encore aux stades ultérieurs. Au stade II, FIG. 2, en effet, on voit que la substance mitochondriale a davantage épousé les lignes maîtresses de la structure fondamentale réticulaire.

Aux stades suivants, FIG. 3, 4, 5, en même temps que le nombre des chondriosomes diminue dans les espaces interfibrillaires, on voit les fibrilles, de plus en plus définies, devenir aussi plus colorables. Cela paraît bien confirmer que cette colorabilité leur vient de la substance mitochondriale qui s'y est déposée.

Nous n'avons pas pu suivre le détail de cette application des chondriosomes, sur la structure réticulaire. Disons seulement qu'il nous semble que le chondriosome, au lieu de s'allonger tout d'une pièce sur le filament, s'y répand plutôt d'une façon plus ou moins régulière.

Enfin, aux stades ultérieurs, FIG. 6 et 7, les fibrilles, nettement colorables, sont très accentuées et vont dès lors subir leur différenciation, stade que nous avons laissé en dehors de nos recherches.

C'est le moment de revenir à la question de la valeur du *réseau primitif* incolore des FIG. 1 et 2. On pourrait, à ce sujet, émettre plusieurs hypothèses : ou bien ce réseau provient lui-même d'une transformation des chondriosomes, qu'il faudrait cependant, ainsi que nous l'avons vu plus haut, supposer réalisée à un stade très précoce, antérieur à la FIG. 1; ou bien il représente une structure fondamentale du protoplasme indifférent, lui appartenant en tant que tel; ou bien enfin il résulte d'une différenciation que subit le protoplasme de la cellule myoblastique à l'effet, précisément, d'engendrer les fibrilles.

Touchant la première hypothèse, on pourrait rappeler que MEVES (10), tout en attribuant aux chondriosomes la production des fibrilles collagènes, admet cependant qu'entre le stade : plastosomes isolés, et le stade : fibrilles collagènes, il doit se trouver un stade de réseau — que l'auteur n'a pas observé, — où les chondriosomes, ayant perdu leur colorabilité spécifique, se sont disposés en réseau, mais sans avoir acquis déjà la colorabilité des fibres collagènes.

On pourrait adapter cette hypothèse à notre cas, et penser que notre réseau incolore correspond précisément à ce stade intermédiaire entre mitochondries isolées et fibrilles, les chondriosomes continuant d'ailleurs, après avoir donné naissance au réseau, à lui fournir des matériaux pour son développement.

Nous n'avons pas étudié les mitochondries des cellules embryonnaires; nous ne pouvons donc pas déterminer d'une façon définitive si le réseau dont nous parlons provient d'une transformation directe du chondriome. Cette hypothèse nous paraît cependant très peu probable.

Au stade de notre FIG. 1, le réseau extramitochondrial est formé de travées tellement minces et tellement peu apparentes que l'on comprendrait difficilement qu'il provînt de mitochondriès anastomosées. En outre, on ne voit pas pourquoi un réseau mitochondrial s'amincirait d'abord et deviendrait incolorable, pour s'épaissir ensuite et devenir à nouveau colorable par les mêmes méthodes mitochondriales. Il nous semble donc que le réseau est génétiquement indépendant des mitochondries et appartient au protoplasme dans lequel celles-ci sont plongées.

Si cela est vrai, il nous faut choisir entre la seconde et la troisième des interprétations que nous avons énoncées plus haut, à savoir : le réseau représente-t-il une structure fondamentale du protoplasme ou provient-il d'une différenciation fibrillogénétique d'un protoplasme homogène? Le fait que le réseau n'apparaît qu'en quelques plages serait favorable à cette dernière hypothèse, mais, pour trouver dans ce fait un argument décisif, il faudrait d'abord établir qu'un réseau primitif ne pourrait exister, tout en demeurant invisible et n'apparaissant qu'au moment des transformations qui conduisent à la fibrillation. Nous nous trouvons d'ailleurs ici devant le très difficile problème de l'organisation fondamentale du protoplasme. Nous avions, dans l'espoir de le résoudre pour notre objet, commencé à préparer du matériel traité par diverses méthodes de fixation. Mais nous n'avons pas tardé à constater que l'étude comparative que nous voulions entreprendre, nous aurait retenu fort longtemps et, tout incomplets qu'ils demeurent, nos résultats nous ont paru valoir d'être publiés, à cause de leur importance pour la question des chondriosomes. Quoi qu'il en soit en effet du point dont nous venons de parler et même quoi qu'il en soit de notre interprétation plus générale sur la valeur cytoplasmique et non pas mitochondriale, du réseau lui-même, nos recherches, en tout cas, établissent un fait nouveau : c'est que, pour donner naissance aux fibrilles, les mitochondries collaborent avec

un réseau, *non entrevu* par Duesberg[1]. La conception de ce dernier auteur : « *chaque myofibrille n'est qu'un chondriosome filamenteux modifié* », bien que séduisante à première vue, paraît, après un examen plus approfondi, ne pas répondre à la réalité.

Notre interprétation s'écarte donc à la fois de celle qui ne voit dans la structure musculaire qu'un réseau transformé et de celle qui attribue tout aux chondriosomes. Les partisans de la première opinion n'ont pas tenu compte des chondriosomes, — que d'ailleurs les méthodes anciennes ne mettaient pas en évidence, — mais les parrains de la seconde ont méconnu le rôle du réseau. Ce n'est d'ailleurs que graduellement et après de nombreux tâtonnements que nous sommes arrivé à notre interprétation.

Au début de nos recherches, nous fumes assez longtemps sur le point de nous ranger complètement à l'avis de Duesberg. Cependant un détail sur lequel M. le professeur Grégoire appela dès lors notre attention, semblait demeurer inexpliqué dans l'hypothèse du professeur de Liège, nous voulons dire la présence de fibrilles incolores, minces, assez peu distinctes, que nous trouvions, fig. 8, mélangées en assez grand nombre à des fibrilles bien colorées. Dans l'hypothèse où les myofibrilles proviendraient de chondriosomes dans lesquels la matière mitochondriale se ramasse en disques, nous ne comprenions pas quel rôle il fallait accorder à ces filaments minces et incolores. Il ne peut être question d'attribuer cet aspect à une décoloration accidentelle de fibrilles déjà colorables, car on trouve les filaments incolores mélangés à des chondriosomes parfaitement colorés, et d'autre part, le nombre de ces fibrilles, d'abord peu élevé, grandit ensuite, pour diminuer plus tard au fur et à mesure qu'apparaissent les fibrilles colorables. Notre objection à la thèse de Duesberg nous apparut d'autant plus sérieuse que l'auteur lui-même dessine ces filaments incolores, fig. 18 et 20, mais sans les mentionner dans sa description, et sans leur donner place dans son schéma de la page 647, fig. J.

Nous fumes ainsi entraîné à chercher un lien entre ces fibrilles incolores et les fibrilles colorables. Certains aspects nous firent penser que ces dernières résultent d'une association de fibres incolores, donnant lieu à une formation naturellement plus colorable, ou bien inversement que la fibrille colorable, en se dédoublant, donne naissance à des fibrilles plus minces et peu colorables. Mais ces deux hypothèses ne nous satisfirent

(1) Rappelons que Benda admit lui aussi que les mitochondries ne font que collaborer avec des fibrilles d'une autre origine. Seulement, l'auteur ne fait intervenir les chondriosomes que pour produire les disques anisotropes.

point. Nous voyions en effet des fibres fort colorables qui, certainement, ne provenaient pas du groupement de plusieurs fibrilles minces, et d'un autre côté, au lieu de trouver des images nettes de bipartition, nous rencontrions plutôt des aspects de ramification irrégulière ou d'anastomisation. Ces dernières images nous conduisirent à admettre que les fibrilles naissent d'une structure réticulaire, elle-même déjà colorable par place sous les réactifs mitochondriaux, mais demeurant encore incolore dans d'autres portions. Enfin, remontant plus haut vers l'origine des fibrilles, nous trouvâmes les aspects des FIG. 1 et 2, nous montrant que le réseau d'où proviennent les fibrilles est en réalité un réseau de fond, sur lequel se déposent les chondriosomes.

Dans notre hypothèse il est facile d'expliquer l'accroissement du nombre des fibrilles : il résulte, en partie du moins, de ce que de nouvelles portions de réseau se régularisent et s'orientent.

LEVI (12), pour rejeter la participation directe des chondriosomes à la formation des fibrilles, allègue que le nombre des mitochondries ne diminue pas pendant la différenciation. Mais cet argument est sans valeur si on admet que les chondriosomes peuvent se multiplier, au fur et à mesure que certains d'entre eux servent à la différenciation. D'ailleurs les filaments colorés de la fig. 22 de l'auteur représentent-ils vraiment des chondriosomes, ou bien ne sont-ils pas plutôt un stade de la transformation du réseau en fibrilles (du moins par places)? Il est intéressant de faire remarquer que LEVI a, lui aussi, nettement dessiné des fibrilles incolores fort nombreuses, et qu'elles semblent bien souvent provenir d'un réseau.

CONCLUSIONS.

Les chondriosomes prennent part à la formation des fibrilles musculaires. Cependant on ne peut pas dire qu'une myofibrille soit un chondriosome filamenteux modifié. En effet la toute première production de fibrilles se réalise aux dépens d'un réseau incolore, qui est, *du moins alors*, indépendant des chondriosomes. Ceux-ci *collaborent* avec ce réseau, en se déposant sur ses travées. Mais ce sont les travées elles-mêmes qui deviennent, en s'orientant, les fibrilles. Nous n'avons pas pu élucider complètement la signification de ce réseau : il semble bien avoir une origine indépendante des mitochondries et représenter une structure du fond protoplasmique, mais nous devons laisser en suspens la question de savoir si ce réseau plasmatique appartient à l'organisation fondamentale du protoplasme ou s'il provient lui-même d'une première étape de la différenciation « fibrillogénétique »,

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1899 *Benda, C.* : Weitere Mitteilungen über die Mitochondria; Verh. der phys. Gesellsch. zu Berlin, 1898-1899.

1891 *Bütschli* und *Schewiakoff* : Ueber den feineren Bau der quergestreiften Muskeln von Arthropoden; Biol. Centralbl., 11.

1884 *Carnoy, J. B.* : La Biologie Cellulaire.

1909 *Duesberg, J.* : Les chondriosomes dans les cellules embryonnaires du poulet et leur rôle dans la genèse des myofibrilles, avec quelques observations sur le développement des fibres musculaires striées; Arch. für Zellforsch., 4. Band, 4. Heft.

1912 » Plastosomen, « apparato reticolare interno » und Chromidialapparat; Ergeb. der Anatomie und Entwickelungsgeschichte, Bd. XX, zweite Hälfte.

1911 *Firket, J.* : Recherches sur la genèse des fibrilles épidermiques chez le Poulet; Anat. Anz., Bd. 38.

1902 *Godlewsky, E.* : Die Entwickelung des Skelet- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere; Arch. f. mikr. Anatomie, Bd. 60.

1899 *Heidenhain, M.* : Struktur der contractilen Materie. Ergebn. d. Anat. und Entwickelungsgeschichte, Bd. VIII.

1910 *Hoven, H.* : Sur l'histogénèse du système nerveux périphérique et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation; Arch. de Biol., 25.

1911 *Leplat, G.* : Sur quelques points d'embryologie et d'anatomie microscopique de l'œil des oiseaux; Compte rend. Assoc. Anat Paris.

1911 *Levi* : Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare; Arch. ital. di Anatomia e di Embriologia, X.

1913 *Luna, E.* : Sulla importanza dei condriosomi nella genesi delle miofibrille; Anat. Anz., Bd. 43.

1907[1] *Meves, Fr.* : Ueber Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen; Anat. Anzeiger, 31.

1907[2] » Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse FLEMMINGS; Anat. Anzeiger, 31.

1909 » Ueber Neubildung quergestreifter Muskelfasern nach Beobachtungen am Hühnerembryo; Anat. Anz., 34.

1908 *Mlodowska, S.* : Zur Histogenese der Skelettmuskeln; Bul. de l'Acad. des sciences de Cracovie.

1903, 1904, 1905 *Prenant, A.* : Questions relatives aux cellules musculaires; Arch. de Zoologie expérimentale.

1911 » Problèmes cytologiques généraux soulevés par l'étude des cellules musculaires; Journ. de l'Anat. et de la Phys., 47.

1912 » Les Cellules musculaires. Étude de Cytologie et d'Histophysiologie générale; Rev. gén. sc. pures et appl., 23.

1908 *Schockaert, A.* : Nouvelles recherches comparatives sur la structure et le développement du myocarde chez les vertébrés; Arch de Biol., 24.

1886 *Van Gehuchten, A.* : Étude sur la structure intime de la cellule musculaire striée; La Cellule, 2.

1887 » Étude sur la structure intime de la cellule musculaire striée; Anat. Anzeiger, 2.

1888 » Étude de la structure intime de la cellule musculaire striée chez les vertébrés; La Cellule, 4.

EXPLICATION DES FIGURES.

*Toutes les figures ont été dessinées, à la hauteur de la platine du microscope, à l'aide de la chambre claire d'*ABBE. *Notre microscope était muni de l'object. apoch.* ZEISS *1.30, 2 mm., de l'oc. comp. 18 et d'un condensateur holoscopique* WATSON. *Nous avons toujours observé en lumière artificielle.*

FIG. **1.** Plages réticulées et chondriosomes dans un embryon dont le somite postérieur, dessiné ici, ne présente encore, à sa partie profonde, qu'une rangée de myoblastes.

FIG. **2.** Id. dans le même embryon.

FIG. **3.** Myoblaste du somite immédiatement antérieur à ceux des dessins précédents.

FIG. **4.** Trois systèmes fibrillaires appartenant à un des somites postérieurs d'un embryon, présentant, déjà dans ses parties les plus avancées, quelques fibrilles moniliformes.

FIG. **5.** Quelques systèmes fibrillaires d'une partie plus avancée du même embryon.

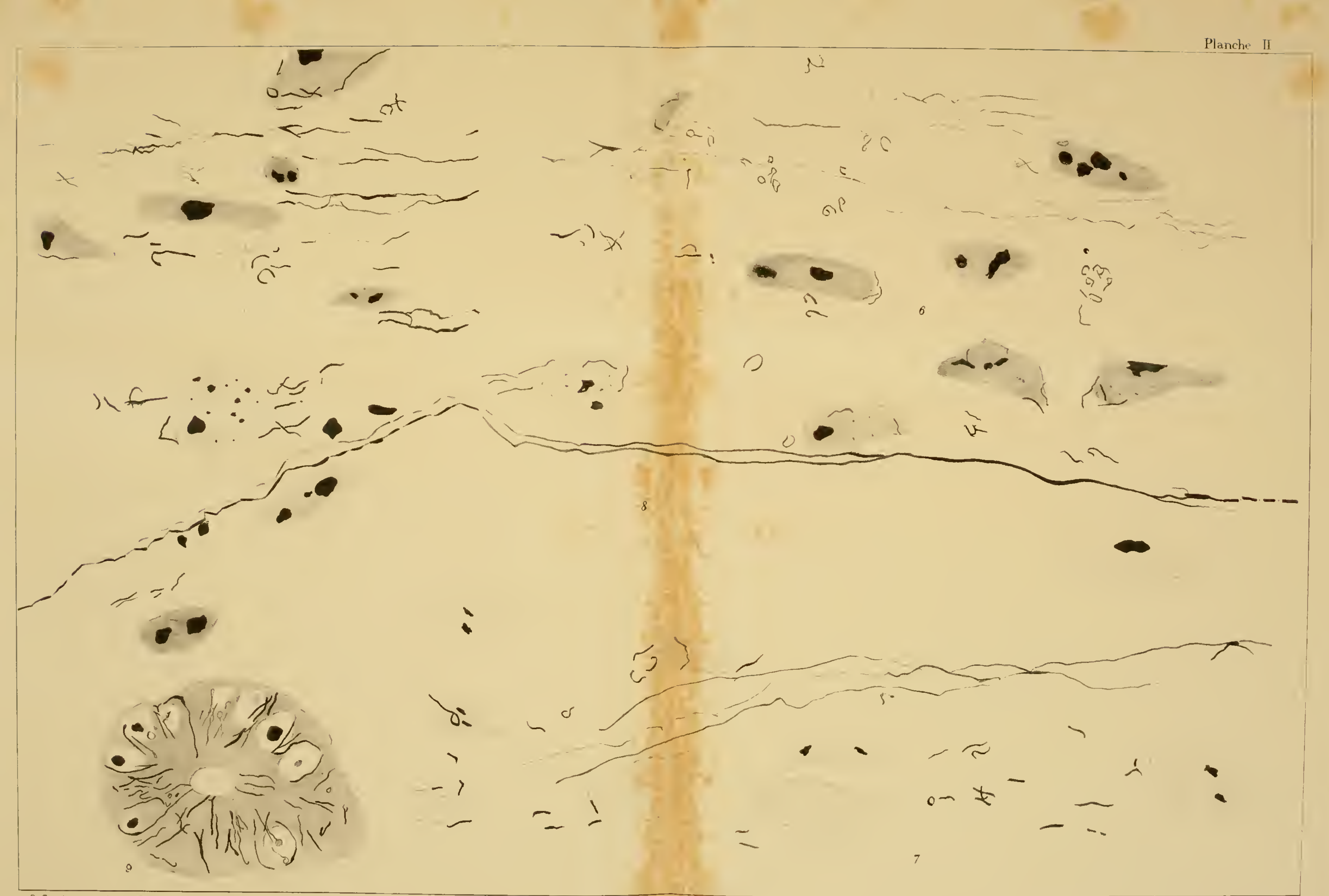
FIG. **6.** Deux systèmes fibrillaires d'une partie encore plus différenciée du même embryon.

FIG. **7.** Quelques fibrilles plus différenciées du même embryon.

FIG. **8** Fibrille musculaire d'un embryon dont les parties les plus différenciées contiennent des éléments complètement différenciés. Cette fibrille montre des restes de la structure réticulaire.

FIG. **9.** Tube du corps de WOLFF de l'embryon qui a fourni les FIG. **4**, **5**, **6**.

P Gaudissart ad nat. del. Imp Gielé, Louv J Gingelée lith



P. Gaudissart ad nat. del.

Imp. Géle, Louvain

J. Singelee lith. Bruxelles

Microsporidies
parasites des larves de Simulium

THELOHANIA VARIANS

PAR

le Dr Paul DEBAISIEUX.

Assistant a l'Institut de Zoologie de l'Université de Louvain.

(Mémoire déposé le 25 juin 1913.)

Microsporidies parasites des larves de Simulium

THELOHANIA VARIANS

INTRODUCTION.

La microsporidie dont nous abordons l'étude fut observée d'abord par Léger (97) dans les larves aquatiques d'un diptère, le *Simulium*. Il la décrivit sous le nom de *Glugea varians*. Depuis Lutz et Splendore (03-04), ayant retrouvé la même espèce, ont noté qu'elle diffère des Glugéides; et se basant sur le fait que le sporonte donne généralement huit spores, ils la rangèrent dans le genre *Thelohania*, Sp. indet. Il convient de rendre à cette microsporidie le nom spécifique qui lui fut, et à juste titre, donné par Léger. Nous l'appellerons donc *Thelohania varians*.

Cette espèce constitue un excellent matériel de recherches; grâce aux dimensions relativement considérables et à la grande clarté de certaines périodes de l'évolution, notamment de la fécondation, elle permet de résoudre plusieurs questions importantes et controversées. Comme on s'en rendra compte cependant, ce travail est loin d'épuiser toutes les questions pendantes, et à côté de quelques affirmations nouvelles, il reste beaucoup de points encore obscurs. La comparaison avec d'autres espèces de microsporidies, dont nous poursuivons l'étude, permettra, nous l'espérons, d'élucider encore quelques-unes de ces difficultés. Malgré les lacunes nous n'hésitons pourtant pas à livrer les résultats acquis; ils pourront servir de guide à d'autres chercheurs, faciliter leur tâche, ou même, nous l'espérons, stimuler leur esprit de critique.

Le matériel qui servit à cette étude a été trouvé dans des larves de *Simulium reptans* L. [1]; celles-ci furent récoltées en abondance dans un ruisseau des environs de Louvain, à la fin de l'hiver. Quelques larves pour cent seulement étaient infestées; elles se reconnaissent à ce que toute la partie postérieure du corps est opaque et blanchâtre plus ou moins distendue suivant l'intensité de l'infection; parfois même des masses parasitaires font hernie à la surface du corps dont elles refoulent la paroi. Les parasites se développent surtout aux dépens du tissu adipeux de l'hôte; ils forment un ou plusieurs amas denses irréguliers qui se trouvent dans la partie postérieure de la cavité générale du corps, où ils se moulent sur les divers organes. Dans ces amas, les individus sont tassés sans aucun ordre; tous les stades, les plus jeunes et les plus âgés sont entremêlés.

Il existe d'une larve à l'autre de grandes différences dans l'aspect et la dimension des colonies, dans la dimension des parasites à un même stade et la fréquence des stades, enfin même dans des détails d'évolution. Nous avons eu parfois beaucoup de peine à coordonner les variantes et à les rapprocher d'un même type; nous donnons en appendice la description d'une infection s'éloignant à tel point du type général que nous supposons qu'elle est provoquée par un parasite d espèce différente.

Les méthodes employées furent diverses. Nous avons eu recours d'abord à l'observation sur le vif, et les spores furent soumises à l'action de réactifs variés afin de provoquer la dévagination du filament spiralé. Le seul produit qui nous ait donné des résultats à ce point de vue est l'acide chlorhydrique très dilué. Les frottis fixés et colorés sont utiles pour l'étude de la structure des spores, mais ne permettent que des observations fort incomplètes de tous les autres stades. L'étude la plus approfondie a été faite sur des coupes.

Les fixateurs qui ont donné les meilleurs résultats sont les liqueurs de Bouin et de Zenker; il est bon, afin de permettre la parfaite pénétration du liquide, de sectionner les larves et même parfois de disséquer les amas parasitaires. Les meilleures colorations furent obtenues par l'hématoxyline au fer de Heidenhain; nous avons été très utilement guidé, surtout dans l'étude des spores, par l'emploi des colorants différentiels, tels que les mélanges de Giemsa, de Romanowski et de Borrel.

(1) La détermination de l'espèce a été aimablement faite par le docteur Goetgebühr, il ne pourra se prononcer avec certitude que lorsqu'il nous aura été possible de lui procurer l'insecte adulte.

Multiplication végétative ou agame.

Le cycle complet de l'évolution du *Thelohania varians* comprend deux périodes; la première, végétative ou agame, se termine par la production d'individus qui subissent la fécondation; durant la seconde période, sexuée, les individus fécondés se transforment en spores.

Toute la période sexuée, la fécondation et la sporogonie, est très caractéristique et de sériation aisée et évidente; par contre la multiplication végétative peut se présenter sous divers aspects et son étude est beaucoup plus difficile; la tâche est facilitée par le fait que les stades de même aspect sont présents, parfois exclusivement, parfois en majorité, dans une même larve, et que souvent des individus à peu près au même stade sont groupés. Il est ainsi possible d'établir des sériations avec un minimum de lacunes.

En suivant ces données, nous avons établi plusieurs séries qui appartiennent toutes à la période végétative, car toutes se terminent par la production d'éléments analogues possédant deux noyaux destinés à se fusionner, c'est-à-dire à subir la fécondation.

Il ne nous fut pas toujours possible de rapprocher ces divers aspects entre eux en les rattachant à leur stade d'origine; nous discuterons cette question au cours de la description, en faisant ressortir les points encore énigmatiques ou douteux.

Premier aspect.

Les parasites les plus jeunes, ou plutôt les plus simples que nous avons rencontrés dans nos préparations, se présentent sous forme de toute petite masse protoplasmique, possédant un noyau en voie de division, FIG. 5, 6. Cette division, pour autant que la petitesse de l'objet permette de s'en rendre compte, est d'un type amitotique très simple Les divisions nucléaires se succèdent très rapidement, sans période de repos, et même les deux noyaux-filles d'une division sont encore intimement accolés que déjà la division suivante est très avancée, FIG. 9-12.

Les parasites provenant de ces premières divisions se présentent sous différentes formes : a) le plus souvent ils sont uni- ou binucléés et perdus dans la masse énorme de parasites de tout âge. Plus rarement, le cloisonnement du protoplasme ne suit pas aussi rapidement la division nucléaire, et l'on peut rencontrer des mérontes à 5 ou 6 noyaux en division, FIG. 13.

b) D'autres fois les limites des parasites sont moins nettes, ils se trouvent disséminés dans le protoplasme de la cellule hôte et l'on trouve à côté d'eux les noyaux à peine modifiés de ces cellules, FIG. **14**, **15**. Le protoplasme des cellules hôtes paraît pouvoir se développer considérablement et contribuer à former la masse fondamentale au sein de laquelle plongent les parasites à tous stades.

c) Dans un troisième cas, que nous avons rencontré en abondance en un endroit localisé d'une colonie de parasites, les mérontes présentent une multiplication assez particulière. Ils se montrent sous forme de petits individus fort allongés et étroits contenant des éléments chromatiques très irrégulièrement disposés, tantôt en longue traînée unissant deux amas terminaux plus développés, FIG. **17**, tantôt en granules et bâtonnets irrégulièrement disséminés, FIG. **18**, tantôt en petits amas isolés, FIG. **19-20**. Ces aspects pourraient faire croire à une multipartition simultanée aux dépens d'une espèce de chromidium, mais nous croyons plutôt à une multiplication rapide par bipartitions successives, à rapprocher de la multiplication représentée FIG. **13**. Le processus est certainement exceptionnel et évolue très irrégulièrement.

Les parasites à noyaux doubles accolés peuvent encore se multiplier : chacun des deux noyaux peut se diviser à son tour, parfois dans le sens longitudinal, et l'on trouve alors quatre noyaux d'abord unis, FIG. **23-24**, puis s'isolant par paires, FIG. **27-28**, de façon à donner de nouveau des individus à deux noyaux-filles accolés. (Les FIG. **24** à **26** pourraient être considérées comme étant déjà les premiers stades de fécondation, FIG. **57-62**.)

Quelle que soit la forme des multiplications végétatives de ce premier type, elles aboutissent toujours à la formation de parasites possédant un protoplasme non cloisonné, dans lequel plongent deux noyaux largement accolés et qui sont les noyaux-filles provenant d'une division inachevée, FIG. **29**.

Deuxième aspect.

Dans plusieurs larves infestées nous avons rencontré une multiplication végétative du parasite à aspect tout différent de celui que nous venons d'étudier.

Il est certain que l'on se trouve en présence de multiplications végétatives, car l'évolution se termine par la production de parasites à deux

noyaux-filles destinés à se fusionner; au reste cette évolution est essentiellement analogue à celle du premier type et ne paraît être qu'une modalité spéciale du phénomène.

On pourrait se demander si cette forme de multiplication végétative ne caractérise pas une espèce distincte. De fait, elle ne se rencontre pas avec les formes précédentes; cependant dans les deux cas d'infection le cycle général et bien des stades sont analogues, et les variantes qui les distinguent ne sont pas assez importantes pour justifier actuellement la création d'une espèce nouvelle.

Nous parlerons en appendice, p 62, d'une forme d'infection qui possède des caractères beaucoup plus différents et qui probablement n'est pas due au *Thelohania varians*.

Dans le deuxième aspect, qui nous intéresse ici, le parasite libre, beaucoup plus grand que dans le premier cas étudié, est constitué d'une masse de protoplasme dans laquelle plongent et se multiplient les noyaux, FIG. 32-35. Ceux-ci, assez volumineux, se composent d'un réseau irrégulier supportant des blocs et des grains chromatiques. Nous n'avons pas observé que dans ce noyau existe un véritable caryosome.

Ces noyaux se multiplient par une amitose fort simple, ils se développent, s'allongent et se cloisonnent transversalement. C'est sous cette forme de deux moitiés intimement accolées que l'on rencontre le plus fréquemment les noyaux. C'est également avec cette forme de noyau double que les individus s'isolent de la plasmodie, soit que des bourgeons se séparent de la masse, soit que la masse totale se segmente. C'est dans ce dernier cas que l'on rencontre les parasites disposés en rosette à individus plus ou moins nombreux, FIG. 36.

Le stade final de ce second type d'évolution schizogonique est le même que celui rencontré dans le premier type : un individu possédant dans un protoplasme unique un volumineux appareil nucléaire formé de deux moitiés intimement accolées.

Les jeunes mérontes que nous venons de décrire dans ces deux premiers aspects, paraissent provenir, en grand nombre du moins, de la libération sur place du germe amiboïde d'une spore, mais très probablement d'une spore non mûre ou d'une variété de spore non durable et dépourvue de capsule polaire.

1° Nous avons en effet souvent observé des spores, parfois de dimen-

sions normales, FIG. 4, parfois volumineuses, FIG. 1-3 et 30-31, qui sont très transparentes et ne fixent pas les colorants de façon aussi stable que les spores normales. Dans ces spores nous n'avons pas vu de capsule polaire, mais on y voit une ébauche de division nucléaire, FIG. 4, et même deux ou trois noyaux, FIG. 1-2 et 31. Le contenu de ces spores ressemble énormément aux jeunes mérontes, FIG. 4-6 et 31-32.

2° Le fait que des parasites de tous stades sont mêlés, que des mérontes se trouvent au milieu des amas de spores, s'explique facilement par cette façon de voir.

3° Il est peu probable que ce soit une spore durable qui libère son germe amiboïde dans l'hôte, car nous n'avons jamais pu mettre en évidence dans l'hôte des spores ayant dévaginé leur filament polaire. Il est vrai que ce filament est fort difficile à voir, mais on sait que sa dévagination demande un milieu de réaction très spéciale qui probablement ne se rencontre que dans le tube digestif.

Troisième aspect.

Dans les larves qui montrent également le premier aspect de multiplication végétative, on rencontre, parfois en grande abondance, des individus à aspect tout particulier et dont l'évolution présente un grand intérêt.

Ces parasites sont uninucléés et plongent dans l'amas des parasites ou dans le protoplasme de la cellule hôte, FIG. 38-39. Le noyau très colorable est parfois réticulaire granuleux sans structure bien définie, d'autres fois il présente une sphérule chromatique entourée d'une zone fortement colorable qui supporte souvent quelques granules. Autour du noyau existe une aire claire ressemblant à une vacuole, mais qui semble occupée par le protoplasme du parasite, FIG. 38. Quand ces jeunes individus évoluent, la sphérule centrale du noyau se divise et bientôt chacune de ses moitiés se montre nettement formée de deux portions chromatiques élémentaires. Entre les deux amas polaires ainsi formés apparait une espèce de plaque équatoriale qui se montre comme un filament colorable, terminé par un petit renflement à chaque extrémité, FIG. 39-40. Le noyau se trouve ainsi divisé en deux moitiés séparées par une mince cloison; chaque moitié possède deux granules essentiels. Ce noyau devient plus lâche et se transforme en noyau double typique, FIG. 38-39, 41-42.

Mais des parasites du même type, FIG. 43, peuvent évoluer tout différemment et se diviser par une amitose du type très élevé. Le noyau

assez dense, montre de nombreux granules et des travées chromatiques, FIG. 43, 44. Tout le noyau s'étire fortement et les granules se condensent de plus en plus aux deux pôles, formant deux masses qui s'isolent peu à peu, FIG. 44-54.

Les deux amas polaires sont d'abord reliés par de nombreuses travées, elles se réduisent bientôt à deux filaments principaux qui portent en leur milieu un épaississement chromatique, FIG. 47-49. Pendant que se produit ce que nous pourrions appeler la télophase, on observe souvent que, de même qu'il y a deux filaments unissants, il existe dans chaque amas polaire deux masses chromatiques plus ou moins distinctes et individualisées, FIG. 49-52. Nous avons même exceptionnellement observé des aspects analogues à ceux décrits dans le second type d'infection, p. 64, FIG. 121-122, où la division paraît donner quatre noyaux-filles, comme si le noyau primitif était déjà divisé. Finalement le protoplasme envahit l'espace libre entre les deux noyaux-filles et entre eux persiste longtemps un ou deux filaments unissants, FIG 55-56.

Il nous fut impossible de déterminer avec certitude quelle est l'origine de ces aspects du parasite. La conception la plus simple serait de considérer que les premiers stades sont des individus végétatifs isolés se rattachant par exemple aux stades de nos FIG. 14 et 15. Le polymorphisme que l'on observe dans cette espèce permettrait cette façon de voir, qui se trouve appuyée du fait que ces stades se rencontrent parfois isolés, parfois groupés autour des noyaux-hôtes dans des cellules à peine parasitées comme dans la FIG. 14; les amitoses nucléaires sont différentes de celles que l'on observe généralement dans la multiplication végétative du *Thelohania varians;* elles ne sont cependant pas toutes aussi parfaites que celles de nos dessins et ne constituent pas un argument décisif contre cette première interprétation, qui paraît la plus logique.

Une seconde hypothèse est cependant possible. Les stades initiaux de cette évolution seraient des sporoblastes qui ne se développent pas en spore, mais qui régénèreraient directement des individus végétatifs. Cette interprétation se base :

1° Sur le fait que les noyaux denses, à sphère centrale ou à granules et réseau chromatiques ressemblent étonnamment aux noyaux de sporoblastes contenus dans le sporonte, FIG. 86, 92, et que des noyaux déjà divisés, à quatre granules et plaque transversale, se rencontrent également dans les sporontes.

La FIG. 37 représente un de ces sporoblastes observés dans le sporonte.

2° Sur le fait que les amitoses de type élevé que nous observons ici sont analogues aux aspects de division des sporoblastes, FIG. 83, 84, 87, 90.

Enfin il est possible que les individus nés de ces amitoses élevées se transforment en spores, mais il est impossible d'affirmer le fait, car les nombreuses spores aux premiers stades de leur formation, que l'on rencontre librement dans les amas parasitaires, peuvent fort bien provenir de sporontes prématurément éclatés.

Quelle que soit l'origine de ces derniers aspects des éléments végétatifs, ils présentent un grand intérêt, parce qu'ils prouvent à l'évidence que les deux noyaux accolés du stade final de l'évolution végétative, FIG. 29, 41, 42, sont certainement des noyaux-filles provenant d'une division, et ce fait a son importance, car, lors de la fécondation, ce sont ces deux noyaux qui se fusionnent.

La description que nous venons de donner de la période de multiplication végétative, concorde en partie avec les descriptions généralement admises. Cette période fut observée chez la plupart des microsporidies et évolue par divisions amitotiques du noyau et segmentation du protoplasme (STEMPELL, 02, SCHRÖDER, 09, HESSE, 04, MERCIER, 09, SWELLENGREBEL, 12).

Fréquemment les méronтes restent accolés en chapelet, dans d'autres espèces ils restent unis en plasmodie; enfin le polymorphisme dans une même espèce, comme c'est le cas ici, fut aussi observé plusieurs fois, notamment par STEMPELL (04), mais surtout par FANTHAM et PORTER (12) qui observent des variantes ressemblant beaucoup à plusieurs de celles que nous observons nous-même dans le premier aspect. Une multiplication végétative par bourgeonnement à aspect très particulier fut sommairement décrite par DUNKERLEY (12) dans une microsporidie de la mouche domestique.

Dans quelques espèces de microsporidies, le *Nosema anomalum* (STEMPELL, 04, 10, AWERINZEW et FEMOR, 11), le *Myxocystis* (HESSE, 05), on a décrit des formes végétatives très particulières. Elles possèdent un noyau énorme, ramifié, irrégulier, qui, par bourgeonnement de petits noyaux secondaires, donnerait les jeunes méronтes. Cette interprétation est repoussée par SCHUBERG (10), MRAZEK (10), SCHRÖDER (09) et d'autres. Ils envisagent les grands noyaux comme appartenant aux cellules hypertro-

phiées de l'hôte et n'admettent pas la production de mérontes à leurs dépens. Dans le type d'infection qui nous occupe, nous avons rencontré de grands noyaux mêlés aux parasites et appartenant certainement aux cellules de l'hôte; ils en ont gardé l'aspect et ne sont ni irréguliers ni ramifiés, FIG. 14, 38. Mais nous rencontrerons de grands noyaux analogues à ceux décrits par STEMPELL (04) dans le second type d'infection, dont nous nous occuperons en appendice. A cet endroit (p. 64) nous discuterons en détail la signification qu'il convient de leur attribuer.

Multiplication sexuée.

1. Fécondation.

Comme nous venons de le voir, l'aboutissant de la multiplication agame, quel qu'en soit le type, est toujours un individu à deux noyaux intimement accolés; ils sont les noyaux-filles provenant de la division d'un même parent.

Le parasite ainsi constitué grandit, les noyaux subissent quelques modifications et finalement ils se fusionnent; l'individu né de cette autogamie se transforme en sporonte, puis en sporoblastes.

Nous nous trouvons en présence du stade nommé pansporoblaste par beaucoup d'auteurs; mais ce terme assez vague prête à confusion, parce qu'il fut très différemment employé et de plus il n'implique pas l'idée de fécondation; nous appellerons donc *diplocaryon autogamique* cet individu binucléé qui sert de point de départ à la multiplication sexuée.

Le diplocaryon autogamique se présente sous forme assez irrégulière, généralement un peu allongée, suivant le sens d'accolement des deux noyaux, FIG. 57. Le protoplasme est de structure uniforme, à contours peu distincts, les noyaux sont assez volumineux, contenant un réseau plus ou moins colorable et un amas chromatique irrégulier. Ils montrent souvent à l'état d'ébauche une division suivant le grand axe de l'appareil nucléaire double, FIG. 58-62; l'un des granules est expulsé dans le protoplasme et disparaît complètement, FIG. 62.

Il convient de remarquer la ressemblance des stades 58, 59, 60 avec les formes grégariniennes de PÉREZ (05*a*). Nous n'avons malheureusement pas pu comme lui observer sur le vif la motilité de ces formes.

Les noyaux du diplocaryon sont encore le siège d'un second phénomène; la substance chromatique de chaque noyau, réduite maintenant à une seule masse centrale, FIG. 63, s'étire dans le sens de la largeur du noyau, c'est-à-dire parallèlement à la surface d'accolement des deux noyaux. Finalement la masse chromatique allongée se scinde et on trouve dans chaque noyau deux granules, dont l'un plus petit, FIG. 64-67. Ce petit granule est expulsé du noyau principal, entrainant avec lui une portion du réseau achromatique, FIG. 68-71. Le phénomène se passe simultanément dans les deux noyaux, et symétriquement; aussi à certain moment trouve-t-on deux petits noyaux complets enclavés dans l'angle d'accolement des deux grands, FIG. 69-70. Les deux petits noyaux dégénèrent, ils se réduisent de plus en plus, jusqu'à ne plus être finalement que deux granules chromatiques, qui eux-mêmes disparaissent, FIG. 70-71.

Plusieurs interprétations de ces phénomènes sont possibles; elles ne s'excluent d'ailleurs pas l'une l'autre :

a) Les aspects de la première division, FIG. 57 à 62, font suite aux FIG. 23 à 25, où le méronte se multiplie par division longitudinale des noyaux; aussi peut-on croire que la division de la masse chromatique intranucléaire indique ici l'ébauche d'une nouvelle division; cette division avorte et l'un des granules est expulsé dans le protoplasme.

La seconde division pourrait être analogue à la première, et avoir la même signification. Il est d'ailleurs possible que l'une des deux divisions seulement ait lieu dans chaque diplocaryon; rien en effet ne permet d'affirmer qu'elles se succèdent, il eût fallu pour cela suivre l'évolution sur le vif, ce qui fut impossible.

b) Peut-être la seconde division a-t-elle la valeur d'une réduction chromatique précédant la fécondation, et peut-on attribuer la même valeur à la première division.

c) Enfin peut-être les noyaux expulsés ne disparaissent-ils pas complètement dans le protoplasme, mais y réapparaissent-ils plus tard sous forme de sphérules chromatiques, dont nous reparlerons bientôt.

Nous croyons plus sage de ne pas trancher maintenant ces questions, et d'attendre que des études ultérieures jettent plus de lumière sur ces phénomènes. Il faut remarquer d'ailleurs que ces aspects, très clairs et très nombreux dans quelques larves, sont moins marqués dans d'autres.

Les deux noyaux principaux du diplocaryon autogamique subissent ensuite les transformations qui conduisent à la période essentielle, à *la*

fécondation proprement dite. Le gros granule chromatique se fragmente en masses de plus en plus petites et sa substance paraît diffluer sur le réseau achromatique du noyau, FIG. 72-74.

Celui-ci, tandis que les granules disparaissent, devient plus apparent; il est formé de longs filaments, repliés et entortillés sur eux-mêmes, et disposés plus ou moins radiairement par rapport au centre du noyau, FIG. 75-77. Souvent on observe de très beaux parallélismes entre des filaments voisins. Il convient de mentionner le fait, mais nous ne saurions en déterminer l'importance, car dans plusieurs préparations cet aspect est certainement exagéré par les réactifs.

Quand le réseau nucléaire est formé, la membrane séparant les deux noyaux disparaît sans laisser trace, les deux noyaux communiquent largement, et les deux réseaux nucléaires entrent en contact, FIG. 78-80. De nombreux filaments chromatiques vont de l'un à l'autre, et s'entortillent irrégulièrement; il devient impossible de délimiter chaque noyau, mais il ne semble pas cependant qu'il y ait enchevêtrement complet des deux réseaux.

Dès lors la fécondation est accomplie, et on se trouve en présence d'un zygote qui est un véritable sporonte; nous verrons bientôt que, sans qu'il y ait une période de repos, les divisions sporogoniales se produisent.

Au moment où la fusion des deux noyaux s'achève, parfois même plus tôt, on voit apparaître dans le protoplasme d'abondants granules chromatiques, FIG. 78-81.

Tous les stades de fécondation proprement dite, FIG. 72-80, se rencontrent en très grand nombre dans le *Thelohania varians*, et ne peuvent en aucune façon être considérés comme aspect accidentel; dans quelques larves, chaque champ du microscope embrasse plusieurs de ces aspects.

La fécondation proprement dite, telle que nous venons de la décrire, se présente sous un aspect tout nouveau; mais dans l'objet que nous étudions elle se montre avec une clarté remarquable, et la sériation et la localisation de cette période dans le cycle général sont aisées à établir.

1° Le diplocaryon autogamique et tous les stades de fécondation se distinguent de tous les autres par leurs dimensions beaucoup plus grandes, et par leurs noyaux volumineux qui contiennent aux derniers stades un amas de filaments chromatiques tout à fait typique.

2° La sériation, d'ailleurs évidente par l'enchaînement parfait des

stades, est encore confirmée par l'apparition et le développement dans le protoplasme des granules chromatiques.

3° La localisation de la fécondation immédiatement avant la sporogonie est certaine par le fait que les granules chromatiques se retrouvent et se développent considérablement dans le sporonte.

4° La localisation de la fécondation immédiatement après la période végétative est prouvée par l'identité du stade initial de l'une et final de l'autre, et la relation entre ces deux stades permet en même temps de considérer la fécondation comme une autogamie.

Nous discutons plus loin, à propos du cycle général d'évolution, les descriptions très différentes données jusqu'à présent pour la fécondation; mais ici nous voudrions attirer l'attention sur ce fait que plusieurs auteurs ont décrit, — ou dessiné — un stade binucléé à la fin de la période végétative (Schröder, 08, Ohmeri, 12, Fantham et Porter, 12, notez surtout la fig. 45 de ces derniers); mais ils observent qu'une dernière division donne deux éléments uninucléés isolés.

Peut-être de nouvelles études montreront-elles une caryogamie là où l'on avait cru à une division.

2. Sporogonie.

a) *Formation des sporoblastes.*

Le noyau du sporonte, après la fécondation, ne subit pas de période de repos. Il s'étire en long et le réseau, très uniformément réparti, ne montrant plus trace du dédoublement antérieur, remplit la cavité nucléaire, FIG. **81**. Quelques granules chromatiques, parfois réduits à deux granules principaux, sont supportés par le réseau.

Le noyau s'étire de plus en plus en longueur, se condense aux deux extrémités, et la première division sporogoniale s'achève suivant un type d'amitose assez élevé, FIG. **82-84**, et fort semblable à celui que nous avons observé et décrit p. 52, FIG. **43-56**, à propos du troisième aspect des multiplications végétatives. Par trois divisions nucléaires successives, toutes du même type, le sporonte donne naissance à 8 noyaux, FIG. **87-94**; après chaque division les noyaux traversent une période de repos, ils deviennent sphériques, et montrent quelquefois un réseau filamenteux et des granules

chromatiques, FIG. 91. Parfois la condensation nucléaire s'accentue, et la substance fondamentale du noyau devient plus dense et plus colorable; parfois même tous les éléments chromatiques se réduisent à un seul gros granule, FIG. 92.

Le protoplasme montre durant cette période des particularités intéressantes. Au moment de la fusion des deux noyaux de la copula, on observe qu'il supporte quelques granules chromatiques, FIG. 78-79; ceux-ci se développent énormément lors de la première division sporogoniale, et se disposent annulairement autour du sporonte, FIG. 83-84. Bientôt, dès la première division sporogoniale apparaît une masse homogène, colorable, quoique irrégulièrement, par les colorants ferriques (généralement décolorée sur nos dessins, FIG. 88 et suivantes). Cette substance envahit tout le sporonte et refoule le protoplasme dans une petite zone autour de chaque noyau de sporoblaste, FIG. 91.

Cette substance est en relation avec les granules chromatiques du sporonte, et nous sommes enclin à lui assigner un rôle dans la formation des membranes sporales. Nous avons reproduit à dessein, FIG. 95-96, deux sporontes se trouvant côte à côte dans une même préparation, et ayant subi par conséquent l'action tout à fait identique des réactifs. Dans le premier, les sporoblastes sont dépourvus de membrane propre, et la substance intercalaire est très chromatique; dans la seconde, plus avancée, les sporoblastes possèdent leur membrane et sont très chromatiques, tandis que la substance intercalaire a perdu sa colorabilité et a presque complètement disparu. Ces deux aspects donnent l'impression très nette de la participation de la substance intercalaire à l'édification des membranes sporales. La colorabilité, il est vrai, ne constitue pas un argument bien fort, car elle est très variable, même dans des sporontes voisins et à peu près du même âge; mais la diminution de la masse fondamentale au moment de l'accroissement des spores et de la formation des membranes, est plus suggestive.

La formation des sporoblastes telle que nous l'avons observée, évolue à peu de choses près comme chez le *Thelohania giardi* d'après MERCIER (09) et la formation des sporoblastes aux dépens du sporonte, par amitoses successives, est fort généralement observée (STEMPELL, 02, SCHRÖDER, 08, HESSE, 04). Ce dernier décrit même « une sorte de mitose avec stade de spirème ». Par contre, PÉREZ (04, 05*a*) décrit la formation des sporoblastes

par la multipartition simultanée d'un chromidium né de l'éparpillement des éléments nucléaires du sporonte.

Quant aux éléments chromatiques du protoplasme, ils ont été plusieurs fois observés (STEMPELL, 02, MERCIER, 08*a*, 09, PÉREZ, 04, 05). Ces deux derniers auteurs les décrivent comme provenant du noyau du sporonte et PÉREZ leur attribue un rôle de renforcement des parois sporales.

b) *Formation des spores.*

L'étude de la formation des spores de microsporidies présente de grandes difficultés; la forte réfringence de la membrane s'oppose à une bonne étude sur matériel frais, sa grande imperméabilité s'oppose à l'action des colorants et surtout à l'action des fixateurs. Aussi la plupart des spores fixées apparaissent-elles fort mal conservées. De plus, la sériation est difficile et incertaine.

LÉGER et HESSE (07) ont décrit la spore de *Coccomyxa morovi*, qui par le fait qu'elle ne possède qu'une seule capsule polaire paraîtrait se rattacher aux microsporidies, mais la formation se fait absolument comme pour les myxosporidies. Dans le sporonte (qui ne donnera qu'une seule spore), se forment cinq noyaux et bientôt quatre cellules. L'une donne la capsule polaire, deux autres donnent chacune une valve sporale, la quatrième, binucléée, donne le germe amiboïde.

MERCIER (08*a*, 09) observe chez le *Thelohania giardi* la division du noyau du sporoblaste en 5 noyaux. Ceux-ci, sans qu'intervienne un cloisonnement, donnent l'un la capsule polaire, deux autres les valves, les deux derniers le germe amiboïde. STEMPELL (09-02), dans *Nosema bombycis* et *Glugea anomala*, décrit une évolution analogue. Sa façon de voir pour *Nosema bombycis* (09) vient d'être mise en doute par OHMORI (12), travaillant la même espèce. SCHRÖDER (09), sans être très affirmatif, arrive pour le *Thelohania chætogastris*, aux mêmes conclusions que celles de STEMPELL. FANTHAM et PORTER (12) décrivent également cinq noyaux dans la spore et leur attribuent le même rôle que les auteurs précédents; mais ils observent d'abord l'inconstance du nombre et des dimensions de ces noyaux, ensuite ils observent l'existence de la membrane sporale et de la vacuole de la capsule polaire — sans filament spiralé — alors que le noyau unique de la spore ne s'est pas encore divisé. Ces deux faits permettent un certain scepticisme vis-à-vis de leur interprétation.

Nos observations sur la formation des spores de *Thelohania varians* furent très laborieuses, et malgré cela elles ont donné fort peu de bons résultats, et restent très incomplètes; mais elles ne nous permettent aucun rapprochement avec les schémas d'évolution précédents, et par conséquent avec le schéma admis pour les myxosporidies; elles se rapprochent par contre beaucoup des observations de SCHUBERG (10) sur *Pleistophora longifilis* et de celles de OHMORI (12).

Dans les sporoblastes commençant à se transformer on voit un gros noyau, à structure réticulaire, se porter en un pôle de la masse du protoplasme, tandis qu'à l'autre pôle apparait une vacuole allongée, FIG. **98**. La membrane qui se forme bientôt parait être continue, et rien n'autorise à la croire formée par un ou deux noyaux valvaires.

Elle est formée probablement par différenciation périphérique du protoplasme du sporoblaste avec participation de la substance fondamentale qui emplit le sporonte.

A l'intérieur de la membrane, le sporoblaste se rétracte en forme de poire, le gros bout étant occupé par le noyau, l'extrémité effilée contenant la vacuole; considérons-la comme antérieure. Cette vacuole supporte antérieurement un granule colorable métachromatique. Nous entendons ce terme en ce sens que cette substance colorable existe en dehors du noyau et présente une colorabilité différente de la chromatine nucléaire.

Les colorants de GIEMSA et de ROMANOWSKI le colorent en rouge, tandis que le noyau est coloré en bleu, FIG. **99**. Ce granule métachromatique apparait souvent dédoublé; en tout cas, restant en rapport avec la vacuole, il se développe considérablement, FIG. **100-110**.

Une ou plusieurs vacuoles naissent alors dans le protoplasme, assez irrégulièrement, mais surtout groupées à l'extrémité postérieure, FIG. **101-103**. Ces vacuoles se réduisent à une seule, et le noyau toujours unique est refoulé vers le centre de la spore, FIG. **104-110**. La masse métachromatique volumineuse donne de nombreux fragments qui se portent vers l'arrière, FIG. **105-109**, et entrent probablement en relation avec la grande vacuole postérieure. Ils masquent parfois tout l'intérieur de la spore. La colorabilité métachromatique disparait peu à peu; finalement dans la partie postérieure de la spore on devine le filament spirale, FIG. **112-113**.

Le noyau du sporoblaste est resté caché pendant la dernière période de formation de la spore, masqué par la masse centrale du protoplasme où il avait été refoulé au début. Dans la spore achevée on trouve une vacuole

antérieure avec une masse centrale sphérique fort estompée que l'on pourrait prendre pour le noyau. Mais nous sommes tenté de croire qu'en réalité il reste caché dans le protoplasme ainsi que SCHUBERG (10) l'a vu après être parvenu à le colorer parfaitement. La question se pose alors, de savoir si le noyau reste unique, ou bien s'il se divise comme l'ont observé STEMPELL, MERCIER, SCHRÖDER.

Nous ne pouvons y répondre, mais cette division n'aurait à nos yeux que peu d'importance constituant simplement une division végétative précoce, comme nous l'avons vu antérieurement dans les spores non durables.

Nos observations ne nous ont pas montré de noyaux valvaires, et si l'on veut rapprocher le granule métachromatique d'un noyau capsulogène, il faut convenir qu'il n'évolue guère comme un noyau. Nous nous rallions à l'avis de SCHUBERG (10), qui n'admet pas de véritable capsule polaire bien limitée, mais seulement un filament spiralé, et nous sommes tenté de rapprocher le mode de formation de ce filament de celui qui fut décrit par MOROFF (10) pour les cnidoblastes de cœlentérés, et par AWERINZEW (08) chez les myxosporidies. Ils décrivent le filament spirale comme formé par des chromidies.

Ajoutons enfin que le *Thelohania varians* possède, comme la plupart des microsporidies, des spores de dimensions très différentes (AUERBACH, 10, HESSE, 03, *a* et *b*, SCHRÖDER, 09, LÉGER, 97, DUNKERLY, 12, SCHUBERG, 10). — Sauf VANEY et CONTE (01), qui ont cru que ces différentes spores propageaient l'infection les unes dans l'hôte même, les autres dans un nouvel individu, on n'a jamais attribué de rôle différent à ces différentes spores et la question de leur signification, de leur structure peut-être, reste encore pendante.

APPENDICE.

A. *Infection de type différent.*

Dans quelques larves de *Simulium* nous avons trouvé des parasites différant notablement de ceux que nous venons de décrire.

Nous avons dit plus haut que le *Thelohania varians* est assez polymorphe; à propos du deuxième aspect de multiplication végétative, nous nous sommes demandé si l'on ne se trouvait pas en présence d'une espèce

différente. Cette fois nous hésitons encore davantage à ranger sous la même dénomination les parasites dont nous allons nous occuper, car ils diffèrent du premier type :

1° Par l'aspect général des colonies;

2° Par la réaction qu'ils provoquent dans les cellules de l'hôte;

3° Par le nombre plus grand des spores nées d'un sporonte, et par la formation de ces spores, qui, à aucun moment, ne sont noyées dans une substance amorphe appartenant au sporonte;

4° Enfin par de grandes différences dans la multiplication végétative.

L'aspect extérieur des larves parasitées est identique dans les deux types d'infection, et les deux types se rencontrent dans les larves récoltées le même jour et exactement au même endroit; quant à l'aspect général de la coupe, il diffère. Dans le type qui nous intéresse ici, les parasites sont groupés en masses volumineuses et s'y trouvent assez régulièrement ordonnés; la colonie est à certains endroits nettement séparée des tissus voisins par une zone externe densifiée et différenciée, FIG. **115**, **120**. Les stades jeunes sont situés à la périphérie, chaque individu se trouvant dans une alvéole de substance hyaline homogène, FIG. **115-116**, et de la périphérie vers le centre se dirigent des travées rayonnantes formées de parasites à des stades de plus en plus avancés. Tout le centre de la masse parasitaire et l'espace libre entre les travées sont occupés par des spores libres. Enfin à la périphérie, en dedans de la couche différenciée, il existe de nombreux noyaux volumineux et irréguliers appartenant aux cellules-hôtes.

On remarquera combien cette description se rapproche de celle que donne PÉREZ (08), malheureusement sans figures, pour le *Duboscqia Legeri*; comme de plus, le *Duboscqia* est la seule oligosporée qui contienne plus de huit spores (PÉREZ en observe 16), nous sommes tenté de rapprocher de ce genre le parasite qui nous intéresse ici.

L'évolution de ce parasite est analogue dans ses grandes lignes à celle que nous avons décrite pour le premier type d'infection; nous ne pouvons en approfondir l'étude autant que nous voudrions, parce que nous n'avons que peu de matériel à notre disposition et que ce matériel est moins favorable que celui du premier type, la fixation étant rendue difficile par l'existence du tissu homogène dans les alvéoles duquel chaque parasite est isolé.

Les stades jeunes que nous avons rencontrés sont des mérontes assez volumineux à un seul noyau très simple formé d'une sphérule chromatique qui plonge dans une vacuole claire. Ces mérontes deviennent bientôt binu-

cléés, et c'est l'aspect sous lequel ils sont le plus fréquents, FIG. 114-115-116. Ils prennent à certain moment un aspect caractéristique : la substance chromatique se développe beaucoup autour des granules nucléaires et forme deux hémisphères très colorables, séparés par une large fente claire, FIG. 117-118-119. Nous croyons que cette transformation prépare le diplocaryon autogamique, et la FIG. 119 justifie cette façon de voir.

Le diplocaryon autogamique, FIG. 126, 127, se présente comme celui que nous avons décrit plus haut, comme un individu à protoplasme insegmenté, dans lequel plongent deux noyaux volumineux et largement accolés.

La formation des sporoblastes se fait par des divisions analogues à celles que nous avons observées dans le premier type d'infection. Les sporoblastes provenant d'un même sporonte, restent groupés en rosette; nous en avons fréquemment observés plus de 8 par sporonte, mais il nous fut impossible sur coupes de déterminer exactement leur nombre. Pendant la sporogonie de nombreux fragments chromatiques occupent la surface des sporoblastes, FIG. 128-129, parfois deux masses latérales rappellent les noyaux valvaires décrits par MERCIER (09), mais nous ne pouvons leur attribuer cette signification, elles sont trop variables et trop irrégulières.

Parmi les individus évoluant librement, nous avons rencontré des amitoses analogues à celles décrites pour le premier type, p. 53, et parmi celles-ci nous avons observé beaucoup de divisions doubles, dont le produit parait être quatre noyaux isolés ou plutôt accolés deux à deux, FIG. 121 125. La signification de ce phénomène nous échappe.

Nous avons surtout attiré l'attention sur ce parasite encore énigmatique à cause de l'allure des cellules-hôtes que nous avons rencontrées dans une des larves infectées.

Elles sont situées, souvent en grand nombre, à la limite des amas parasitaires, à l'intérieur de la couche périphérique densifiée. Elles sont hypertrophiées et les noyaux se présentent sous forme de granules, de boudins ou de blocs très chromatiques, disséminés dans un substratum alvéolaire, granuleux, à contours très irréguliers, FIG. 115-116. De plus, ces noyaux sont très fréquemment en cinèse, FIG. 120. C'est ce dernier fait qui nous permet de considérer les noyaux en question comme appartenant à l'hôte. En effet, des cinèses comme celle représentée par notre FIG. 120 ne peuvent en aucune façon être considérées comme appartenant à une microsporidie. Admettant même que les divisions nucléaires du parasite puissent être d'un

type très élevé, elles n'ont jamais été vues comme cinèses aussi parfaites que celles qui nous intéressent; et de plus, le noyau végétatif du parasite ne se diviserait pas par cinèse, alors que par bourgeonnement il a donné des parasites qui s'y trouvent encore accolés, FIG. 120.

Cette façon de voir concorde avec celle de SCHRÖDER (09), MRAZEK (10) et SCHUBERG (10); de même avec celle de MERCIER (08*b*), qui constate que des microsporidies provoquent, notamment dans des cellules adipeuses, l'apparition de cinèses anormales. Par contre, elle est en opposition avec l'interprétation de HESSE (03), PÉREZ (08) et STEMPELL (04). Ce dernier surtout, dans une note plus récente (10), soutient énergiquement sa façon de voir contre SCHRÖDER et SCHUBERG, qui l'ont contredite. — Il considère les grands noyaux hypertrophiés des colonies de *Glugea anomala* comme représentant un stade végétatif du parasite, ces noyaux par bourgeonnement donneraient des sporontes. AWERINZEW et FEMOR (11) confirment cette façon de voir et décrivent le détail — au moins étrange — de la transformation du grand noyau.

En présence d'affirmations contradictoires aussi catégoriques et n'ayant pas en main le matériel qui fait l'objet principal de la controverse *(Glugea anomala)*, nous n'osons pas trancher la question. Ce qui est certain, c'est que dans notre matériel nous avons trouvé, dans les amas parasitaires à l'intérieur de l'enveloppe densifiée externe, des noyaux hôtes anormaux, et cette constatation anéantit le principal argument de STEMPELL (10), qui considère que les amas de parasites étant isolés du tissu de l'hôte par une membrane propre, la présence des noyaux hôtes à son intérieur n'est pas probable.

Nos observations ne prouvent évidemment pas que de grands noyaux végétatifs ne puissent pas exister et bourgeonner de jeunes individus. Les premiers stades de multiplication végétative, qui sont très variables, sont encore incomplètement connus et l'affirmation de STEMPELL reste possible.

B. *Transmission de l'infection.*

Les spores traitées par l'acide chlorhydrique très dilué, dévaginent leur filament spiralé, FIG. 132-134.

D'après l'hypothèse la plus probable et généralement admise, le même phénomène se passerait, après ingestion, dans le tube digestif de l'hôte; là, le germe amiboïde de la spore se libérerait et traverserait la paroi intes-

tinale. [STRICKLAND (11) a observé chez les larves de *Simulium* infestées, des cicatrices de la paroi intestinale; il les attribue au passage des parasites.] D'après beaucoup d'auteurs il y aurait alors multiplication du parasite dans le sang, avant que les méronts ne se fixent sur les tissus.

Les expériences que nous avons faites sur la transmission expérimentale de l'infection par le tube digestif, ne nous ont donné jusqu'à présent aucun résultat; nous comptons les reprendre à la saison prochaine.

Dans deux des larves fortement infestées, et appartenant l'une au premier type, l'autre au second (appendice), nous avons rencontré dans la cavité générale du corps une grande quantité d'éléments énigmatiques. Ils rappellent tout à fait ce que MERCIER (09) décrit comme méronts. Voyez également PÉREZ (05), STEMPELL (09).

Ces corps de dimensions très variables sont sphériques, intensément et uniformément colorables par le rouge Congo, et possèdent au centre une sphère très chromatique (hématoxyline) homogène, FIG. **135**. Ils se rencontrent parfois accolés en chapelet, FIG. **141**, la masse chromatique est parfois clivée, parfois un peu granuleuse, elle s'étire en fuseau, FIG. **138**. Ces éléments se rencontrent libres et sphériques, ou bien hémisphériques et largement appliqués contre n'importe quel élément figuré du corps, FIG. **138**. Ils pourraient certes représenter un stade de multiplication du parasite dans le sang, mais, et ceci nous rend très sceptique quand il s'agit de considérer ces éléments comme parasitaires, ils sont très inconstants, très différents de grandeurs, et surtout la masse chromatique qui devrait être le noyau, est de dimensions très variables, souvent même complètement absente, FIG. **136**, **137**, **140**. Ces éléments donnent l'impression de sphères colorables, plus ou moins décolorées par l'alun de fer; tantôt l'action du mordant n'a agi qu'à la périphérie, tantôt elle a pénétré jusqu'au centre. Ce pourrait être des gouttelettes graisseuses, peut-être le produit de sécrétion des cellules séricigènes?

Nous espérons que les expériences d'infection expérimentale, si nous parvenons à les réussir, permettront de trancher cette question avec certitude.

Le cycle général d'évolution.

Le *Thelohania varians* traverse dans l'hôte une période de reproduction végétative ou agame. Les jeunes individus sont généralement binucléés, la

division du noyau se faisant dans le germe amiboïde avant, ou immédiatement après sa libération Ces noyaux se multiplient par des amitoses et les noyaux-filles restent longtemps accolés par paires, souvent jusqu'à ce qu'une nouvelle division forme deux paires aux dépens de la première. Cette première période peut se présenter sous différents aspects, mais elle se termine toujours par la production d'individus qui contiennent deux noyaux accolés intimement et provenus de la division d'un même parent.

Ce stade prépare la fécondation : après accroissement les deux noyaux-filles se fusionnent; cette fécondation doit donc être considérée comme une autogamie (HARTMANN, 09).

Le zygote résultant de la fécondation est un sporonte; sans période de repos, des divisions amitotiques du noyau donnent naissance à 8 sporoblastes (nombre inconstant). Chaque sporoblaste évolue en spore. La spore contient un germe amiboïde primitivement mononucléé, mais il est possible que ce noyau se multiplie déjà dans la spore par une division végétative précoce. Nous n'avons pas trouvé dans la spore de noyau capsulogène ni de noyaux valvaires.

La spore propage l'infection d'un individu à un autre, et n'éclate probablement que dans le tube digestif d'un nouvel hôte. Nos essais d'infection artificielle étant jusqu'à présent restés sans résultats, nous sommes forcé de passer sous silence le détail de cette transmission. Mais il semble que certaines spores non durables propagent l'infection dans l'hôte même, en libérant leur germe amiboïde qui recommence le cycle par multiplication végétative.

Le cycle évolutif peut se résumer en deux mots : multiplication végétative, fécondation par autogamie, sporogonie.

Si l'on essaie de faire cadrer ce schéma d'évolution avec les types déjà établis pour d'autres microsporidies, on rencontre de sérieuses difficultés.

La description toute récente de SWELLENGREBEL (12) est celle dont nous nous rapprochons le plus. Il observe des individus correspondant à ceux de nos FIG. 34-35, et possédant plusieurs noyaux-filles appairés. Ces individus se segmentent et chaque portion de protoplasme contenant une seule paire de noyaux, se transforme en une spore qui devient uninucléée par fusion des noyaux. SWELLENGREBEL considère le premier individu comme pansporoblaste, les seconds comme sporoblastes à deux noyaux-filles. Nous nous demandons si ce qu'il considère comme sporoblaste n'est

pas un diplocaryon autogamique; l'espèce qu'il étudie, se rangeant parmi les microsporidies monosporées, chaque diplocaryon ne donnerait qu'une seule spore. Nos observations concorderaient absolument avec les siennes ainsi interprétées, la fécondation précède la formation des sporoblastes. — Une remarque à peu près analogue peut s'appliquer au travail de CHATTON et KREMPF (11) sur *Octosporea muscæ domesticæ*.

MERCIER (09) observe chez *Thelohania giardi* une fécondation qui précède la sporogonie, mais ses observations diffèrent des nôtres et de celles de SWELLENGREBEL, en ce qu'il croit à une copulation d'isogamètes (Isohologamie ou pœdogamie de HARTMANN). L'une et l'autre description sont peut-être exactes; rien ne s'oppose à ce que dans des espèces fort voisines, à cycle évolutif analogue, il y ait chez l'une copulation, chez l'autre autogamie, l'autogamie pouvant fort bien être considérée, ainsi que le fait HARTMANN, comme un mode de copulation en régression.

Une curieuse variante du processus fut également décrite par MERCIER (05), qui observe que chez une *Thelohania* du Talitre l'accolement des gamètes a lieu comme précédemment avant la formation du sporonte; mais les divisions sporogoniales agissent directement sur les deux noyaux, et donnent 16 à 18 - granules chromatiques - dont la fusion deux à deux n'a lieu que dans les huit sporoblastes.

STEMPELL (02-04-09) et FANTHAM et PORTER (12) décrivent la fécondation comme ayant lieu par fusion de deux noyaux du germe amiboïde, échappé de la spore mûre. SCHRÖDER (09) croit à la possibilité d'une évolution analogue.

On pourrait admettre à la rigueur que pour les espèces monosporées, la fécondation se fait dans chaque spore ou germe amiboïde par autogamie entre les deux noyaux-filles du noyau unique du sporoblaste. Cette interprétation s'appliquerait également à la description de EPSTEIN (11), mais interprétation et descriptions demandent à être confirmées. Pour le *Thelohania mülleri*, espèce octosporée étudiée par STEMPELL (02), nous espérons, en nous basant sur quelques préparations que nous avons eues à notre disposition, nous espérons que nous pourrons bientôt établir le même mode de fécondation que celui décrit dans ce mémoire pour le *Thelohania varians*.

Enfin, d'après SCHIWAGO (09) il y aurait un mode de fécondation tout spécial pour *Pleistophora periplanetæ* : de nombreux individus végétatifs se fusionneraient et leurs noyaux formeraient un chromidium duquel naîtraient

de nouveaux noyaux fécondés. Cette description ne cadre pas avec les idées de PERRIN (06), de MERCIER (08), de EPSTEIN (11) et avec des observations préliminaires que nous avons pu faire nous-même sur la même espèce.

CONCLUSIONS.

1. La multiplication végétative ou agame se fait suivant différents types, et aboutit toujours à la production de diplocaryons autogamiques à deux noyaux-filles largement accolés.

2. La fécondation précède la sporulation et se fait par autogamie.

3. Les sporoblastes naissent par divisions successives amitotiques du noyau du sporonte.

4. Des spores non durables peuvent très probablement se développer directement dans l'hôte même.

5. Dans les spores nous n'avons pu observer ni noyaux valvaires ni noyau capsulogène.

6. Il existe peut-être deux microsporidies différentes parasites des larves de *Simulium*.

7. Dans une de ces espèces il existe dans les amas de parasites des cellules anormales hypertrophiées appartenant à l'hôte et montrant fréquemment des divisions par cinèse.

BIBLIOGRAPHIE.

1910 *a* *Auerbach* : Die Cnidosporidien. Leipzig, Klinkhardt.

1910 *b* » Zwei Cnidosporidien aus cyprinoïden Fische; Zool. Anz., t. 36, p. 440.

1908 *Awerinzew* : Studien über parasitische Protozoen; Trav. Soc. Naturalistes, St-Pétersbourg, t. 38.

1911 *Awerinzew* et *Femor* : Studien über parasitische Protozoen. Sporenbildung bei *Glugea anomala;* Arch. f. Protist., t. 23.

1911 *Chatton* et *Krempf* : Sur le cycle évolutif et la position systématique des protistes du genre *Octosporea,* Flu, parasites des muscides; Bull. Soc. Zool France, t. 36.

1912 *Dunkerly* : On the occurence of *Thelohania* and *Prowazekia* in Anthomyia Flies; Centralbl. f. Bakt., Originale, t. 62.

1911 *Epstein* : Beitrag zur Kenntnis von *Pleistophora periplanetæ;* Biol. Centralbl., t. 31.

1912 *Fantham* et *Annie Porter* : The morphology and life-history of *Nosema apis* and the significance of its various stages; Ann. tropic. Med. Parasitol., Liverpool, t. 6.

1909 *Hartmann* : Autogamie bei den Protisten; Arch. f. Protistenk., t. 14.

1903 *a* *Hesse* : Sur la présence de microsporidies du genre *Thelohania* chez les Insectes; C. R. Ac. Sc., t. 137.

1903 *b* » Sur une nouvelle microsporidie tétrasporée du genre *Gurleya;* C. R. Soc. Biol., t. 55.

1904 *a* » Le développement de *Thelohania legeri;* C. R. Soc. Biol., t 56.

1904 *b* » *Thelohania legeri,* microsporidie nouvelle parasite des larves d'*Anopheles maculipennis;* C R. Soc. Biol., t. 56.

1905 » *Myxocystis mrazeki;* C. R Soc. Biol., t. 57.

1897 *Léger* : Sur une nouvelle myxosporidie de la famille des Glugéidées; C. R. Ac Sc. Paris, t. 125

1909 *Léger* et *Duboscq* : *Perezia lankesteriæ;* Arch. Zool. exp. et génér. Notes et Revues, t. 79.

1908 *Léger* et *Hagenmüller* : Recherches sur les glugéides parasites des animaux d'eau douce; C. R. Ass. Franç. Avanc. Sc., 26me sess., 2me partie.

1907 *Léger* et *Hesse* : Sur une nouvelle myxosporidie parasite de la sardine; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 145.

1903 *Lutz* et *Splendore* : Ueber Pebrine und verwandte Myxosporidien; Centralbl. f. Bakt., Originale, t. 33.

1904 » Ueber Pebrine und verwandte Myxosporidien. Nachtrag; Ibid., t. 36.

1906 *Mercier* : Sur une Microsporidie du Talitre; C. R. Soc. Biol., t. 58.

1908 *a* » Sur le développement et la structure des spores de *Thelohania giardi;* C. R. Ac. Sc. Paris, t. 146.

1908 *b* » Néoplasies du tissu adipeux chez les Blattes parasitées par une microsporidie; Arch. f. Protist., t. 11.

1909 » Contribution à l'étude de la sexualité chez les myxosporidies et les microsporidies; Acad. R. de Belgique, Classe Sc., Mémoires, série 2, t. 2

1910 *Moroff* Entwicklung der Nesselzellen bei *Anemonia;* Arch. f. Zellforsch., t. 4.

1910 *Mrazek* : Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Myxocystiden; Arch. f. Protist., t 18.

1912 *Ohmori* : *Nosema bombycis;* Arb aus dem kaiserlich. Gesundheitsamt, Berlin, t. 40.

1904 *Pérez* : Une microsporidie parasite du *Carcinus mœnas;* C. R. Soc. Biol., t. 56.

1905 *a* » Microsporidies parasites des crabes d'Arcachon; Bull. Stat. Biol. d'Arcachon, t. 8.

1905 *b* » Sur une glugéide nouvelle parasite de *Balanus amaryllis;* C R. Soc. Biologie, t 57.

1908 » *Duboscqia legeri;* C. R. Soc. Biol., t. 65

1906 *Perrin* : Observations on the structure and life-history of *Pleistophora periplanetæ;* Quart. J. micr. Sc., t. 49.

1909 *Schiwago* : Vermehrung bei *Pleistophora periplanetæ;* Zool. Anz., t. 34.

1909 *Schröder* : *Thelohania chætogastris;* Arch. f. Protist., t. 14.

1910 *Schuberg* : Microsporidien aus dem Hoden der Barbe; Arb. kaiserl Gesundheitsamt. Berlin, t 33.

1901 *Stempell* : Zur Entwicklung von *Pleistophora mülleri;* Zool. Anz., t 24.

1902 » Ueber *Thelohania mülleri;* Zool. Jahrb., t. 16

1904 » *Nosema anomalum;* Arch. f. Protist., t. 4.

1909 » Ueber *Nosema bombycis;* Arch. f. Protist., t. 16.

1910 » Morphologie der Microsporidien; Zool. Anz., t. 35.

1911 *Strickland* : Some parasites of *Simulium* larvæ and their effects on the development of the host; Biolog. Bulletin, Woods Hole, t. 21.

1912 *Swellengrebel* : The life history of *Pleistophora gigantea;* Parasitology, t. 4.

1901 *Vaney* et *Conte* : Sur une nouvelle microsporidie, *Pleistophora mirandellæ;* C. R. Acad. Sc., t. 133.

EXPLICATION DES FIGURES.

La combinaison optique (Zeiss) *employée pour tous nos dessins fut l'objectif* 1,30, *dist. f.* 2 *mill.* × *oculaire* 18 *(Grossiss. linéaire* 2250) *avec tirage du tube exagéré à* 180 *mm. La projection fut faite au niveau de la platine par le prisme* Nachet. *Nous donnons une échelle de comparaison d'après le micromètre oculaire de* Zeiss.

Les dessins 132 *et* 133 *seuls furent réduits au* 1/3.

Abréviation : n. h. = noyau hôte.

PLANCHE I.

Multiplications végétatives.

FIG. **1-3.** A l'intérieur d'enveloppes sporales, les noyaux du germe amiboïde se divisent.

FIG. **4.** Spores petites, le noyau semble se diviser; le contenu des spores ressemble beaucoup aux mérontes libres de la figure suivante.

FIG. **5.** Mérontes libres, uninucléés et après division.

FIG. **6-8.** Division des mérontes.

FIG. **9.** Deux mérontes encore accolés se divisent.

FIG. **10-12.** Les deux noyaux d'un méronte commencent à se diviser avant que le protoplasme ne se soit divisé

FIG. **13.** Forme plasmodiale; plusieurs noyaux en division dans une même masse protoplasmique.

FIG. **14.** Mérontes, souvent doubles, dans le protoplasme d'une cellule hôte . *n. h.*, deux noyaux appartenant à l'hôte.

FIG. **15.** Mérontes éparpillés dans la substance intercalaire des amas parasitaires, probablement protoplasme des cellules-hôtes.

FIG. **16.** Stades végétatifs, rappelant assez bien le contenu sporal, peut-être immédiatement après leur libération.

FIG. **17-21.** Forme allongée des individus végétatifs, à éléments chromatiques très irréguliers, ou à plusieurs noyaux.

FIG. **22.** Méronte à deux noyaux accolés.

FIG. **23**_a, b_. Multiplication végétative dans le sens de la longueur du méronte.

FIG. **24-26.** Les noyaux se divisent transversalement, ce qui semble indiquer une multiplication dans le sens de la longueur. Pourraient être déjà les premiers stades de fécondation. (Voir plus loin.)

FIG. **27.** Forme en chapelet, quatre noyaux accolés deux à deux.

FIG. **28.** Noyaux largement accolés deux à deux dans une masse protoplasmique commune.

FIG. **29.** Stade final de la multiplication végétative; individu à protoplasme unique à deux noyaux largement accolés; constitue le diplocaryon autogamique.

FIG. **30.** Second aspect de la multiplication végétative; spore volumineuse avec un grand noyau.

FIG. **31.** Deux noyaux à l'intérieur de la membrane sporale.

FIG. **32-33.** Plasmodie à deux noyaux.

FIG. **34.** Plasmodie à deux paires de noyaux.

FIG. **35.** Plasmodie à plusieurs noyaux plus ou moins divisés.

FIG. **36.** Le protoplasme s'est cloisonné, les segments restent groupés en rosette, chacun contenant un noyau double, ou en voie de cloisonnement.

FIG. **37.** Noyau de sporoblaste, observé dans un sporonte complet. (Dessin de comparaison avec les stades suivants.)

FIG **38-39.** Troisième aspect de la multiplication végétative. Individus isolés dans la masse intercalaire, à noyau dense, ou bien en voie de division avec deux granules à chaque pôle, ou bien déjà divisé, les deux noyaux-filles étant largement accolés par paire. _n. h._, noyau hôte

FIG. **40.** Noyau en division, deux granules à chaque pôle et espèce de plaque équatoriale.

FIG. **41-42.** Reconstitution de l'individu à deux noyaux largement accolés, stade final du troisième aspect de multiplication végétative.

FIG. **43.** Deux individus isolés analogues à ceux rencontrés en 38 et 39.

FIG. **44-45.** Noyaux denses s'étirant en long, premier stade de division.

FIG. **46-48.** Début de l'amitose.

FIG. **49.** Les amas polaires se montrent formés de deux masses assez distinctes; les filaments unissant les deux pòles supportant un granule chromatique.

FIG. **50-53.** Divers aspects de la division amitotique.

FIG. **54-56.** Tassement au pôle, le protoplasme envahit l'espace libre entre les deux noyaux-filles.

PLANCHE II.

Fécondation et Sporogonie.

FIG. **57-62.** Division dans le sens de la longueur des noyaux du diplocaryon avec expulsion d'un granule chromatique dans le protoplasme.

FIG. **63.** Diplocaryon autogamique.

FIG. **64-67.** Division dans le sens de la largeur des noyaux du diplocaryon et isolement dans chaque noyau d'un granule chromatique.

FIG. **68-71.** Expulsion de ces granules chromatiques qui forment dans l'angle d'accolement des deux grands noyaux, deux noyaux plus petits qui dégénèrent.

FIG. **72-74.** La masse chromatique des noyaux de la copula difflue, tandis que le réseau devient de plus en plus apparent.

FIG. **75-77.** Les deux noyaux du diplocaryon montrent des filaments chromatiques nets; la membrane qui sépare les deux noyaux disparaît.

FIG. **78.** Les deux noyaux du diplocaryon communiquent largement; des granules chromatiques font leur apparition dans le protoplasme.

FIG. **79-80.** Les filaments chromatiques des deux noyaux s'entortillent plus ou moins.

FIG. **81.** Le zygote montre un noyau volumineux à filaments uniformément répartis. Il constitue le sporonte.

FIG. **82.** Début de la première division sporoblastique.

FIG. **83-84.** Première division sporoblastique; les granules chromatiques du protoplasme forment un anneau épais autour du sporonte.

FIG. **85-86.** Sporonte montrant les deux noyaux issus de la première division sporoblastique.

FIG. **87.** Seconde division sporoblastique.

FIG. **88.** Télophase de la seconde division sporoblastique.

FIG. **89.** Sporonte à quatre noyaux; la substance intercalaire envahit tout le sporonte et refoule le protoplasme autour des noyaux.

FIG. **90.** Troisième division sporoblastique; trois noyaux en division seulement sont représentés.

FIG. **91-92.** Divers aspects de sporontes contenant les sporoblastes.

FIG. **93-94.** Sporontes contenant les 8 noyaux de sporoblastes.

FIG. **95-96.** Deux sporontes voisins contenant, le premier, des sporoblastes sans membrane propre et une substance intercalaire chromatique, le second, des spores ayant déjà leur membrane valvaire.

FIG. **97.** Sporoblastes dans le sporonte au moment de la transformation en spores.

FIG. **98.** Jeune spore contenue encore dans le sporonte.

FIG. **99-100.** Apparition du granule métachromatique (en noir intense sur le dessin) au sommet de la vacuole antérieure.

FIG. **101-103.** Divers aspects vacuolaires de la spore.

FIG. **104.** Spore à masse métachromatique volumineuse à ranger peut-être près de la FIG. **110.**

FIG. **105-109.** De nombreux granules et fragments métachromatiques se portent vers la partie postérieure de la spore.

FIG. **110.** La masse métachromatique est encore assez volumineuse; la partie postérieure contient probablement le filament spiralé non colorable.

FIG. **111-113.** Spores en voie d'achèvement. Ces trois figures, dessinées d'après des colorations à l'hématoxyline, laissent deviner le filament spiralé postérieur invisible dans les dessins précédents colorés au GIEMSA et au ROMANOWSKI (105-110).

Second type de parasite.

FIG. **114.** Stades jeunes, uni- et binucléés.

FIG. **115.** Id. avec en plus, grands noyaux hypertrophiés et différenciation de la zone externe de l'amas parasitaire.

FIG. **116.** Stades jeunes et noyaux hypertrophiés.

PLANCHE III.

FIG. **117-119.** Aspect particulier des noyaux doubles accolés, préparant probablement, FIG. **119**, le diplocaryon autogamique.

FIG. **120**. Grand noyau hôte en cinèse. à côté des parasites à plusieurs stades. En dehors zone densifiée externe de l'amas parasitaire.

FIG. **121-124**. Divers aspects de division des parasites libres.

FIG. **125**. Télophase de la division amitotique d'un parasite libre.

FIG. **126**. Diplocaryon autogamique.

FIG. **127**. Stade de fécondation.

FIG. **128-129**. Sporoblastes provenant d'un même sporonte et réunis en rosette. (Le nombre des sporoblastes est incomplètement dessiné.)

FIG. **130-131**. Spores achevées. (Hématoxyline de HEIDENHAIN.)

FIG. **132-134**. Spores traitées par l'acide chlorhydrique, ayant dévaginé leur filament spiralé et dessinées sur le vif. Les dessins 132-133 ont été réduits au 1/3.

FIG. **135-141**. Divers aspects des éléments énigmatiques rencontrés dans la cavité générale du corps.

Planche I.

0μ 5. 10. 15. 20.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 a 23 b 24 25 26 27

28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43

44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56

Planche II.

57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70

71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 a 80 b 81 82

83 84 85 86 87 88 89 90 91 92

93 94 95 96 97

98 99 100 101 102 103 104 105

106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116

F. [illegible] ad nat. del. Lith. De Tollenaere frères Brux. [illegible] Coup.

Planche III

117 118 119

121 122 123 124 125

126 127 128 129 130 120

132 3/3 133 1/3 131 135 136 137

138 139 140 141

134

… ad nat. del. — Lith. De Tollenaere frères Brux. — F. Biesemans Sculp.

Cinèses atypiques dans les cellules adipeuses de larves de Pyrrhocoris apterus L.

avec quelques remarques sur le centrosome

PAR

J. KOWALSKI,

LICENCIÉ-ÈS-SCIENCES,

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 1er juillet 1913.)

Cinèses atypiques dans les cellules adipeuses de larves de Pyrrhocoris apterus L.

avec quelques remarques sur le centrosome.

---

§ 1. INTRODUCTION.

En nous tenant à ce que dit BERLESE dans son ouvrage sur les insectes, non rares sont les observations de divisions cinétiques dans les cellules adipeuses des insectes métaboliques. Cette multiplication cellulaire est surtout active pendant la mue. Nous n'aurions donc pas cru utile de signaler les observations que nous avons faites dans les cellules adipeuses en voie de division d'un insecte hétéro-métabolique, *Pyrrhocoris apterus*, si cette division caryocinétique ne présentait certaines particularités qui nous semblent intéressantes au point de vue cytologique. Presque toutes les cellules en division, et elles sont très nombreuses, présentent, soit dans la figure achromatique, soit dans la figure chromatique, une asymétrie plus ou moins totale, conduisant à la formation de cellules dissemblables, soit dans la grosseur, soit dans le nombre de leurs noyaux.

Par ce terme d'asymétrie nous entendons toutes les modalités diverses qu'on a signalées, ne rentrant pas dans le cadre de la mitose typique.

On sait que les mitoses anormales peuvent se classer, d'après HANSEMANN, en deux groupes principaux, les mitoses asymétriques, incluant la variété de mitoses dites hyper- et hypochromatiques, et les mitoses pluripolaires.

Le caractère différentiel des premières est une distribution très inégale aux deux cellules-filles de la substance chromatique de la cellule-mère, ainsi que la formation de cellules-filles de grosseur différente. Une conséquence de cette distribution inégale des chromosomes aux cellules-filles est la formation de cellules hyper- et hypochromatiques, c'est-à-dire de cellules

possédant un nombre de chromosomes plus grand ou moins grand que les cellules normales de même espèce.

Les mitoses pluripolaires ou mitoses anormales du second groupe sont caractérisées par la présence de plus de deux centres cinétiques dans la cellule, d'où la formation de plusieurs fuseaux cytoplasmiques. Cette variété de mitoses atypiques peut conduire à la formation de plusieurs cellules-filles, qui peuvent être d'ailleurs de taille inégale. Ces divisions cellulaires atypiques se rencontrent dans les tissus pathologiques, tumeurs cancéreuses, sarcomes, ostéosarcomes, inflammations, hypertrophies d'organes. On peut aussi les provoquer expérimentalement en faisant agir divers agents chimiques sur des tissus en voie de néo-formation.

C'est à Galeotti que l'on doit cette observation chez la Salamandre. Nemec a constaté aussi de très intéressantes variations dans la marche normale de la mitose en soumettant les racines de diverses plantes à l'action du chloral.

§ 2. LITTÉRATURE.

Pour nous en tenir aux auteurs qui ont signalé des variations mitosiques dans les cellules adipeuses d'insectes, et dont les observations par là même se rapprochent des nôtres, nous citerons de Sinéty. Chez un phasme adulte, *Leptynia attenuata*, cet auteur a constaté que les cellules adipeuses étaient susceptibles de se diviser par cinèses. Les figures mitosiques étaient très abondantes; l'auteur attribue cette pullulation à une réaction provoquée chez l'insecte par la présence de plusieurs larves parasites d'un insecte diptère, le *Thrixion*.

A propos de ces divisions mitosiques, l'auteur fait remarquer : 1° que la division se produit sans qu'il y ait retour à l'état embryonnaire, le mouvement se localisant autour du noyau, le reste du cytoplasme étant occupé par des vacuoles graisseuses; 2° que les tronçons du boyau nucléinien à la prophase se montrent creusés suivant leur axe d'une cavité tubulaire; ce serait la première indication de la division longitudinale des chromosomes; 3° à la métaphase, le nombre des chromosomes apparait bien supérieur à celui des divisions somatiques ordinaires; ces mitoses étaient donc hyperchromatiques. L'auteur ne signale pas par ailleurs d'autres anomalies dans les cinèses.

Le second auteur qui a observé des cytodiérèses atypiques dans les cellules adipeuses d'insectes adultes est Meunier. Cet auteur a constaté

chez une Blatte adulte parasitée par une microsporidie des mitoses dans le tissu adipeux à *Bacillus cuenoti*. Ces mitoses, dit cet auteur, sont le plus souvent asymétriques et multipolaires. Il admet, indépendamment du premier auteur cité, dont il semble ignorer et le travail et l'opinion, une relation de cause à effet entre la présence de la microsporidie et l'existence de ces mitoses dans les cellules à *Bacillus cuenoti*.

On le voit donc, ces observations se rapportent à des insectes adultes et secondement à des insectes parasités. Admettre une relation de cause à effet entre la présence du parasite et l'existence de mitoses atypiques est donc fort probable; ces auteurs en effet n'ont pas constaté de semblables divisions dans des insectes de mêmes espèces normaux.

Ces deux auteurs diffèrent cependant en ce que DE SINÉTY, comme nous l'avons dit, affirme que la division se produit sans qu'il y ait retour à l'état embryonnaire. MEUNIER, au contraire, soutient que « dans les lobes où la marche du parasite est lente, les cellules à bacilles éloignées du centre d'infection réagissent; elles perdent leurs caractères différentiels et font retour au type embryonnaire. Cette réaction des tissus de l'hôte vis-à-vis du parasite détermine l'apparition d'un tissu de néoformation qui rappelle certaines tumeurs cancéreuses ».

Dans le cas qui nous occupe nous avons longtemps cherché quelle pouvait bien être la cause des nombreuses anomalies que présentent le processus de la division cinétique, et ne trouvant nul parasite dont la présence eût pu troubler l'ordre rigoureux de la cytodiérèse, nous avions d'abord pensé à mettre ces désordres cinétiques au compte de l'état physiologique particulier où se trouvait l'insecte que nous étudions. Cet insecte, en effet, était une jeune larve de *Pyrrhocoris apterus*, mesurant de 4 à 5 millimètres de longueur, qui se préparait à muer, comme le témoignait le liquide parfois très abondant situé entre l'hypoderme et la cuticule, liquide qui par son abondance eût déterminé l'exuviation de la vieille cuticule. Les organes génitaux mâles étaient encore en voie de développement. Or, ce moment de la mue, comme on le sait, est pour tous les animaux qui présentent ce phénomène, et en particulier pour les insectes, un moment critique, physio-pathologique, amenant dans l'organisme des troubles profonds de nutrition. C'est l'instant de la crise de maturité génitale, comme l'a appelé PEREZ, et c'est cet état particulier qui a servi à cet auteur de base pour étayer sa théorie de la métamorphose (or, la mue ne diffère de la vraie métamorphose que par un degré de simplification). Cet auteur, on le sait,

suppose en cet instant de la métamorphose la production de toxines et de stimulines par les disques imaginaux, toxines qui amèneraient la destruction des vieux tissus, stimulines qui hâteraient le développement des histoblastes, petits éléments aux dépens desquels doivent se construire les tissus neufs. La présence de toxines dans l'organisme en ce moment de la mue expliquerait cet affaiblissement, cette fragilité de l'organisme qui rend en effet critique ce passage. Elle expliquerait aussi parfaitement ces anomalies dans la division cellulaire, puisque expérimentalement on a pu les provoquer par l'introduction de poisons dans l'organisme.

Metanilkoff n'a-t-il pas du reste, il y a peu de temps, démontré expérimentalement la présence de substances toxiques dans les tissus des larves sur le point de subir la nymphose?

Du sang prélevé chez une larve de *Galteria*, à deux ou trois jours de la métamorphose, et injecté à une larve jeune, détermine chez celle-ci une sorte de paralysie passagère.

Mais en étudiant de nouveau très attentivement toutes nos coupes, nous avons fini par découvrir particulièrement dans une, un amas de bactéries. Celles-ci étaient, il est vrai, surtout nombreuses en dehors de la coupe et pouvaient dès lors faire croire à un apport étranger de ces éléments au moment du montage de la préparation, mais notre attention ayant été éveillée de ce fait, nous finîmes par en découvrir au sein même des tissus, tissu sanguin, tissu conjonctif, tissu adipeux; leur nombre était certes bien moins grand que dans l'amas signalé plus haut; mais il n'y avait pas de doute à avoir, ces bactéries provenaient de ce lieu d'infection.

L'étendue du champ d'envahissement était cependant très limité, puisque, nous le répétons, nous n'avons trouvé ces bactéries que dans deux ou trois coupes, sur une centaine que comprenait la section transversale de l'insecte. Nous croyons cependant, que l'infection des toxines sécrétées par ces bactéries était suffisante pour s'étendre à l'organisme entier, et provoquer ces troubles cinétiques que ce travail a pour but de mettre en relief. Nous signalons aussi la présence d'un organisme que nous avons trouvé implanté dans le tissu conjonctif limitant en dedans le tissu adipeux. Nous l'avons dessiné fig. 48. C'est sans doute un organisme parasite; nous n'avons pu préciser sa détermination. Peut-être est-ce encore à lui que nous devons rapporter la cause des troubles cinétiques cellulaires?

Tous ces désordres cependant ne sont pas, à notre avis, imputables à la présence de toxines au sein de l'organisme. Certains trouvent naturel-

lement leur raison dans une action mécanique qu'exerçait dans le territoire cellulaire la présence de très nombreuses et très grosses vacuoles graisseuses. Il y avait hypertrophie du tissu adipeux, fait déjà signalé à l'époque de la mue.

C'est à ces deux causes que nous rapportons donc les troubles cytodiérétiques observés. Les mitoses asymétriques bipolaires trouveraient plus particulièrement la raison de leur déformation dans une cause mécanique : le fait de très nombreuses vacuoles graisseuses. — Les mitoses asymétriques pluripolaires seraient les seules vraiment pathologiques dues à l'infection toxique créée dans l'organisme de l'insecte par les bactéries dont nous venons de parler. Le fait d'avoir observé de ces mitoses pluripolaires dans d'autres cellules, telles que les amœbocytes du sang, semble le démontrer. La localisation extrême des bactéries, et par suite la faible intoxication pour l'organisme entier, plaident encore pour admettre que seul les mitoses asymétriques pluripolaires, assez rares, relèvent bien d'une cause pathologique.

Les cellules ne retournent jamais à l'état embryonnaire pour se diviser, comme l'a constaté DE SINÉTY, et cela est vrai, contrairement à ce qu'affirme MEUNIER dans son objet d'étude, aussi bien pour les cellules adipeuses en division, voisines du lieu d'infection, que pour celles qui en sont éloignées.

§ 3. MÉTHODE.

L'insecte étudié avait été fixé au BOUIN aussitôt sa capture. Pour la coloration des coupes, nous ne nous sommes servi que de la méthode de HEIDENHAIN à l'hématoxyline ferrique, avec un colorant plasmatique, le rouge Bordeaux. Les chromosomes et les éléments chromatiques apparaissent bien nets, noirs, sur le reste de la cellule, qui est d'une couleur rouge vineux.

§ 4. OBSERVATIONS.

1. Corps adipeux.

Chez la larve de *Pyrrhocoris*, le corps adipeux ne présente ni cellules à urates, ni cellules à bactéroïdes, mais seulement les cellules adipeuses proprement dites. On ne peut non plus distinguer les deux sortes de tissu adipeux que BERLESE a signalées dans beaucoup de larves métaboliques : le

tissu adipeux distal (compris entre l'épiderme et la membrane péritonéale), et le tissu adipeux proximal (compris entre cette membrane et le tube digestif).

Dans les cellules adipeuses que nous avons eues sous les yeux, on n'apercevait aucun produit déposé, graisse ou albuminoïdes. La présence de larges et de très nombreuses vacuoles au sein du cytoplasme indiquait seule le dépôt d'une grande quantité de graisse durant la vie, graisse que les manipulations avaient fait disparaître.

Au milieu de ces cellules adipeuses, au voisinage de la couche épidermique, se voient de grosses cellules à protoplasme homogène : les *Oenocytes*. Nous n'avons jamais observé chez celles-ci de divisions cellulaires. Les variations que présentent le chromatisme de leur noyau et de leur protoplasme témoignent chez les cellules d'un intense métabolisme en ce moment de la mue. Nous nous proposons d'étudier ces cellules dans un prochain travail.

2. Cellules adipeuses au repos.

Les limites des cellules adipeuses sont parfois difficiles à préciser : cela tient à la petite couche de cytoplasme que les vacuoles graisseuses ont refoulé à la périphérie de la cellule et à l'irrégularité de cette même couche protoplasmique, du fait des compressions inégales qu'elle a subies de la part des vacuoles adjacentes. De cette couche périphérique de cytoplasme partent, par une base élargie, formant pied, des traînées de cytoplasme, plus ou moins larges, ramifiées, aboutissant à la plage cytoplasmique qui environne le noyau. Cette plage de cytoplasme est très variable, soit dans sa position dans la cellule, soit dans sa forme, soit dans ses dimensions. Les vacuoles graisseuses en grossissant réduisent parfois tellement le cytoplasme circumnucléaire, qu'il semble ne plus y en avoir autour de ce dernier. Le liquide graisseux vient baigner d'un côté ou d'autre la surface externe du noyau, et la tension superficielle du liquide vacuolaire étant plus forte que celle de la substance visqueuse du noyau, celui-ci, de rond qu'il est lorsque le cytoplasme l'environne de toutes parts, FIG. 1, 2, devient irrégulier et se creuse de concavités, FIG. 3, 4, 5. Sa position dans la cellule est aussi le fait des vacuoles, et de central il peut occuper une position tout à fait excentrique, à toucher la membrane cellulaire.

Le nombre des noyaux est variable. Généralement unique, FIG. 1, souvent double, FIG. 2, 3, nous avons trouvé des cellules en renfermant jusqu'à

quatre, FIG. 4. Nous verrons plus loin comment se constituent les cellules plurinucléées.

Faisons remarquer dès maintenant la relation de proportionnalité qui existe entre la masse du noyau et celle du cytoplasme, proportionnalité mise en évidence par HERTWIG et ses élèves et connue sous le nom de « Kernplasmarelation ». Les FIG. 2, 3, 4, 8, 32, 33, 34, 44 en sont de bons exemples.

A l'état soit-disant de repos de la cellule, le réseau nucléaire a peu d'affinité pour les colorants basiques; on y distingue très nettement, à cause de leur grande affinité pour ces mêmes colorants, plusieurs *nucléoles nucléiniens.*

Ils peuvent parfois, mais rarement, être demeurés réfractaires à la coloration par suite probablement d'une transformation chimique de leur substance; leur teinte dès lors voisine celle du réseau nucléaire, c'est-à-dire qu'ils se colorent, comme ce dernier, par le rouge Bordeaux.

Très souvent, le nombre des nucléoles du noyau est compris entre sept et neuf, FIG. 3, 5; ils sont souvent de même grosseur, sphériques, entourés parfois d'une auréole claire, FIG. 1. Plus rarement, ce nombre est dépassé soit par la présence de beaucoup plus petits nucléoles, également colorés en noir, soit par la présence de nucléoles égaux aux premiers; une fois seulement, nous en avons compté quinze dans une cellule. Ces nucléoles, que nous appellerons supplémentaires vu le nombre relativement constant des nucléoles principaux, proviennent-ils de la division de ceux-ci, nous ne saurions le dire positivement; toujours est-il que souvent lorsqu'il y a des nucléoles supplémentaires, on les trouve à côté d'un gros nucléole; ceci semblerait indiquer leur origine aux dépens des gros. Comme l'a constaté MONTGOMERY dans les œufs de différents groupes d'animaux, on peut dire que le volume total de la masse des nucléoles est sensiblement constant dans les noyaux des cellules adipeuses que nous avons observées. Nous disons dans les noyaux et non dans les cellules, car celles-ci pouvant renfermer plusieurs noyaux issus de division atypique, la cellule possède de ce fait plus de nucléoles que les cellules normales à un noyau. Notons que ces nucléoles sont en nombre moins élevé dans les noyaux des cellules d'autre espèce, telle que les œnocytes.

Tous les nucléoles sont indépendants du réseau nucléaire, ce qui se remarque surtout dans l'état de quiescence de la cellule, où leur affinité pour les colorants basiques les détache bien de la trame du réseau, qui a

plus d'affinité pour les colorants acides. Lorsque la cellule se prépare à la division, cette différence dans l'affinité de ces deux éléments du noyau s'atténue et à un moment il est très difficile de dire ce que sont devenus les nucléoles.

Un autre fait, qui rend très difficile d'établir le sort des nucléoles au début de la prophase, est le fait de l'égalité, en forme, en volume, en nombre quelquefois, des nucléoles et d'un certain nombre des chromosomes qui se forment à la prophase aux dépens du réseau nucléaire, et apparaîtront sous leur forme définitive à la métaphase. On sait en effet que, d'après Gross, l'insecte *Pyrrhocoris* compte 12 chromosomes dans les cellules sexuelles et 24 dans les cellules somatiques. C'est bien le même nombre que nous avons retrouvé dans les cellules adipeuses de l'insecte étudié, mais ces chromosomes sont d'inégale grandeur : on en compte 16 en forme de bâtonnet, 8 en forme de petites sphères (¹), fig. **11**, **12**. Or, les nucléoles sont souvent en même nombre, ont la même forme, même volume, même coloration que les petits chromosomes. Dans la fig. **9** pouvons-nous dire que les masses irrégulières de chromatine que l'on remarque dans le noyau en prophase sont les nucléoles, dont la substance passe insensiblement dans le réseau pour contribuer à la formation des futurs chromosomes, ou ces masses sont-elles les ébauches de ces chromosomes que la concentration des trabécules du réseau, puis des filaments nucléiniens constitue peu à peu? Nous ne saurions le dire.

La fig. **7** semblerait plaider en faveur de la première hypothèse. Les masses chromatiques de ce noyau sont irrégulières avec petits prolongements. De l'une de ces masses, *m*, se détache très nettement un filament plus épais, plus colorable, qui ressemble tout à fait à un fragment du ré-

(¹) Comme on peut le voir dans ces mêmes figures, un certain nombre des chromosomes présentent une division longitudinale. Mais nous voulons attirer l'attention sur les chromosomes *q*, *q'*, qui simulent des groupes quaternes, particulièrement l'ensemble des éléments *q*. Le groupe *q'* n'est pas réellement un groupe quaterne, car il est composé de deux chromosomes non frères s'entrecroisant en formant un petit arc de cercle. Cette courbure ne se remarque qu'en suivant l'objet dans son parcours à l'aide de la vis micrométrique. A première vue il semble qu'on a un groupe quaterne devant soi. Il en va de même du groupe *q*; mais ici, c'est un même chromosome sphérique qui s'est fendu longitudinalement et dont la partie médiane dans chacune de ces moitiés longitudinales est excessivement amincie. Nous n'avons donc pas affaire à des groupes quaternes réellement constitués, mais on voit combien facilement serait réalisée dans le groupe *q*, une vraie tétrade, puisqu'il suffirait que les parties amincies se brisent transversalement. Nous n'avons cependant pas noté de vraies tétrades comme plusieurs auteurs en ont signalé dans les cellules somatiques d'espèces variées. Ils les considèrent comme des figures pathologiques. Nous n'avons constaté que des apparences de tétrades.

seau de la FIG. 9, d'où naissent les chromosomes. Ici, les nucléoles semblent se désintégrer en un filament nucléinien, la substance des nucléoles fournit un appoint dans la constitution des chromosomes.

Ces quelques points notés sur les nucléoles, soit dans les cellules au repos, soit au commencement de la division cellulaire, nous ont écarté un peu de notre sujet, mais les nucléoles étant des organites si énigmatiques, il nous a paru utile de noter ce qu'une étude attentive dans des cellules où ils apparaissent bien nous a révélé d'intéressant.

3. Cellules adipeuses en division.

Nous abordons maintenant l'étude de la division cellulaire, et pour mettre un peu d'ordre, nous considèrerons d'abord le cas des cinèses asymétriques bipolaires, puis celui des cinèses pluripolaires, auquel nous joindrons l'exposé de diverses particularités relatives au centrosome et un essai d'explication de cet organe si énigmatique.

a) *Cinèses asymétriques bipolaires.*

Comme dans la variété il ne peut exister de règle, il nous est impossible de donner un aperçu général du processus que suit la cellule pour se diviser. Mieux que toute description générale, qui ne peut se faire, un regard jeté sur les FIG. 16 à 27. et 36 à 43, que nous avons multipliées à cette fin, dira quelle variété, quelle asymétrie, se présente dans les cellules adipeuses que nous étudions. Les figures mêmes ne rendent parfois que très imparfaitement le degré où est poussée cette irrégularité, car pour la clarté du dessin, nous avons été forcé soit de ne faire figurer dans nos dessins qu'un seul plan, soit de ramener à un plan quand cela pouvait se faire des détails qui se trouvent dans des plans différents. Le détail de chaque figure sera donné lors de la description de celles-ci, à la fin de ce travail.

Cette asymétrie porte autant sur la partie chromatique que sur la partie achromatique de la figure mitosique. Elle peut être telle que celle-ci devient méconnaissable.

α) **Asymétrie à la métaphase.**

Pour mieux faire apprécier au lecteur cette asymétrie, nous avons dessiné, FIG. 15, une plaque équatoriale typique telle que la présente une

division régulière, et FIG. 16 à 27, diverses cellules en métaphase. L'irrégularité de la figure à ce moment de la division est évidente et très curieuse. Pour l'expliquer, il faut remonter à l'origine du rapprochement des chromosomes formés, plus haut même, au moment de la concentration du réseau nucléaire à la prophase, et à celui de la disparition de la membrane nucléaire qui s'effectue à peu près à ce moment. Quand nous disons que la membrane nucléaire disparaît, nous voulons simplement dire que la surface de séparation des deux liquides visqueux de nature colloïdale, nucléaire et cytoplasmique, s'efface par suite de l'égalité qui s'établit entre les tensions superficielles de ces deux substances. Il n'y a pas à proprement parler de membrane nucléaire.

Au moment où s'efface la surface de séparation entre le noyau et le cytoplasme, et ce moment est assez précoce, FIG. 9, puisque l'homogénéisation des chromosomes est encore peu avancée, le réseau nucléaire étant au stade appelé « spirème » ([1]), au moment dis-je de la disparition de la membrane nucléaire, une fraction de la substance chromatique s'échappe parfois du noyau et s'engage dans une trainée de cytoplasme qui rayonne autour du noyau, FIG. 9; cette portion chromatique s'isole de la masse principale. Mais il peut aussi arriver que la membrane nucléaire disparaisse plus tard, lorsque l'homogénéisation des chromosomes est plus avancée et que ces derniers ont pris leur forme définitive. Dans ce cas, ce ou ces chromosomes en s'engageant, ou mieux entraînés ([2]), FIG. 11, 13, dans une traînée de cytoplasme, sont soustraits par la présence des vacuoles graisseuses à l'action dynamique des centres (que ces centres cinétiques soient constitués par les centrosomes ou non), qui déterminent les deux pôles de la cellule vers lesquels convergent les chromosomes. Ils vont donc ou bien demeurer en retard sur les autres chromosomes lors du rassemblement de ces derniers à la plaque cellulaire, FIG. 13, 14, ou bien demeurer à l'état d'épave au milieu

([1]) Nous ne désignons par ce terme que le moment où les chromosomes sont encore filamenteux et n'ont pas acquis leur concentration définitive. Nous ne prétendons nullement, en employant ce terme, dire qu'il n'y a qu'un filament continu qui se dégage à la prophase du noyau au repos. Nous ne l'avons pas plus observé dans cet objet que chez la Salamandre, où nous avons, il y a quelques années, étudié la formation des chromosomes aux dépens du réseau quiescent nucléaire.

([2]) Cet entraînement n'est pas dû à l'action mécanique du rasoir, comme on pourrait l'objecter, qui aurait séparé un ou plusieurs chromosomes de la masse principale formée par ceux-ci. Cela peut se produire parfois, nous ne le nions pas, mais nous avons constaté maintes fois des cas où manifestement une semblable cause mécanique ne peut être invoquée pour expliquer l'entraînement d'un ou de plusieurs chromosomes, par exemple lorsque ceux-ci sont situés dans un plan intermédiaire aux plans de coupe, supérieur et inférieur.

du cytoplasme, FIG. 23, 27. Semblables à des débris qu'un obstacle ou qu'un remous a entraînés hors du fil de l'eau et qui se décomposent dans une anfractuosité de la berge, de même, ces chromosomes, hors du courant cellulaire, dégénèrent pendant l'achèvement de la division cellulaire, FIG. 41.

D'autres chromosomes peuvent même s'engager dans les vacuoles renfermant le liquide graisseux; cela peut se produire lorsque les vacuoles très fortes pressent de trop près le noyau; la vacuole ou mieux le liquide qu'elle contient fait irruption dans la partie du caryoplasme où gisent les chromosomes, et certains sont entraînés mécaniquement dans les vacuoles graisseuses, FIG. 35, 40. Ceux-là sont aussi soustraits à l'action des centres cinétiques de la cellule. Que vont-ils devenir? Ils dégénèrent au sein de la petite quantité de cytoplasme qu'ils ont entraînée avec eux lors de l'irruption du liquide vacuolaire.

Une autre cause peut encore à la métaphase soustraire des chromosomes à l'action des deux centres dynamiques de la cellule. C'est l'asymétrie de la figure fusoriale cytoplasmique.

Aussi variée que la figure nucléaire est la figure cytoplasmique ou fusoriale dans les cellules adipeuses en division. Cette figure est rarement symétrique comme dans la FIG. 15, où on aperçoit deux sortes de filaments, les uns épais, les autres minces.

Le plus souvent cette asymétrie est totale, c'est-à-dire qu'il n'existe plus ni plan, ni axe, ni point de symétrie. Le fuseau se dispose, il est permis de le dire, comme il peut aux dépens des traînées cytoplasmiques que les vacuoles graisseuses ont laissées dans la cellule. La présence de si nombreuses vacuoles graisseuses, matière inerte, a segmenté à la façon des mailles d'une éponge le cytoplasme de la cellule. L'effet a été de réduire, de morceler le territoire cytoplasmique de la cellule, de telle sorte que les filaments du réticulum ne peuvent s'orienter que difficilement vers les pôles de la cellule.

Mieux que toute description, qui ne peut embrasser tous les cas, l'inspection des figures montrera la variété d'aspect de la figure fusoriale pendant la cinèse. Parfois elle ne peut se former que d'un côté de la plaque équatoriale, FIG. 19, parfois, FIG. 17, de part et d'autre de cette plaque apparaît la figure fusoriale, mais l'une et l'autre des moitiés sont dissymétriques : tandis qu'une des moitiés a la forme d'un cône à surface concave, l'autre moitié est au contraire renflée, l'intérieur même du fuseau étant occupé par une vacuole graisseuse qui en distend les parois.

β) Asymétrie à l'anaphase.

Aucune règle ne préside à l'arrangement des fibres cytoplasmiques fusoriales. Qu'advient-il dès lors, pour les chromosomes qui, à la métaphase, puis à l'anaphase, sont attachés à ces fibres du fuseau? Les chromosomes guidés par les filaments dans leur ascension polaire seront obligés de se plier à l'asymétrie de la figure cytoplasmique, FIG. **21**. De là des figures comme celles représentées FIG. **25**. Au lieu de s'avancer vers les pôles de la cellule en ligne de front, les chromosomes s'acheminent vers eux en ligne de file. De là, plus tard, à la télophase, la formation de noyaux ayant subi une sorte de pivotement, tel que celui d'une des cellules de la FIG. **42**.

Si le fuseau, gêné dans sa formation par les vacuoles, ne saisit [1] pas tous les chromosomes à la plaque équatoriale, une partie des chromosomes demeurant sans guide dans leur ascension polaire demeurent en arrière, se perdent pour ainsi dire en chemin et dégénèrent, FIG. **16**, **35**. Il peut arriver aussi que la plaque équatoriale se fractionne, et chaque groupe de chromosomes s'achemine vers les pôles à sa guise et dans les conditions particulières que sa position, son volume, la forme de la figure fusoriale cytoplasmique créent pour chacun, FIG. **22**, **27**, **31**, **36**.

Il peut arriver enfin, et le cas n'est pas rare, que la plage cytoplasmique périnucléaire ayant été si réduite par les vacuoles graisseuses, le fuseau n'ait pas eu la place de se former et de se développer, FIG. **18**. Les chromosomes-frères réunis à la plaque équatoriale ne peuvent dès lors s'acheminer vers les pôles où tend à les entraîner à la période anaphasique le mouvement dynamique bipolarisé de la cellule. Ils dégénèrent alors en masse, comme le témoigne l'affaiblissement de leur capacité tinctoriale. La cellule a ici vainement tenté de se multiplier. L'hypertrophie graisseuse qui a saisi la cellule et semble s'être accrue durant même la période de division, l'a empêchée d'arriver au terme de son activité cinétique. La cellule dégénère et meurt privée de sa portion qui règle son métabolisme : le noyau.

Il pourrait se faire aussi que le noyau revienne au repos sans achever sa division, comme l'ont constaté les deux frères HERTWIG sur des œufs

[1] C'est là une façon de parler en concordance avec le mode courant d'explication que l'on donne du fuseau achromatique. On verra plus loin comment il faut l'entendre quand nous aurons dit la manière dont nous interprétons les filaments fusoriaux.

d'oursins en voie de segmentation, lorsqu'on fait agir sur eux divers agents chimiques. La masse chromosomique n'a qu'à se vacuoliser pour reconstituer le réseau nucléaire quiescent. La diminution de leur pouvoir chromatique que l'on constate dans l'amas des chromosomes pourrait s'interpréter aussi comme l'indice d'un commencement de vacuolisation. Ce phénomène, au lieu de survenir un peu plus tard, au tassement polaire, comme c'est le cas des caryodiérèses normales, surviendrait plus tôt dans ce cas-ci et apparaîtrait à la métaphase.

γ) Asymétrie à la télophase.

De l'inégalité de volume, de la différence de forme des deux moitiés de la figure fusoriale, résulte une conséquence importante, c'est que les masses chromatiques filles, montant vers les pôles, peuvent être très inégales; autrement dit, les cellules-filles reçoivent des quantités très inégales de chromatine, FIG. 35, 38, 40, 41. L'une sera donc hyperchromatique, l'autre hypochromatique. A l'état de repos, ces cellules auront des noyaux de dimension très inégale. Si par ailleurs une des masses chromatiques se fragmente, comme nous l'avons dit, par le fait de la forme du fuseau cytoplasmique, on aura finalement des cellules-filles telles que nous en offrent les FIG. 45, 3. Une des cellules-filles renferme un noyau; l'autre en contient deux.

La formation de semblables cellules plurinucléées peuvent aussi se former, nous semble-t-il, du fait de la formation incomplète ou même de l'absence de formation de la membrane intercellulaire.

La zone où s'effectuera la séparation des cellules-filles est indiquée par le dépôt sur les filaments connectifs du fuseau d'une substance prenant fortement l'hématoxyline. Ce dépôt se manifeste sous l'aspect de petits points très chromatiques disposés côte à côte comme les fibres elles-mêmes du fuseau. C'est la « plaque fusoriale ». Elle est ici toujours très étroite. Ces dépôts en s'épaississant et se fusionnant constituent plus tard un amas très chromatique, dit « corps intermédiaire de FLEMMING ».

NI la plaque fusoriale, qui n'est en somme que l'ébauche du « corps intermédiaire de FLEMMING, ni ce dernier organe ne contribuent à la séparation des cellules-filles. Si, en effet, la séparation dans la région fusoriale se faisait par délamination de la plaque fusoriale ou du corps intermédiaire, on devrait trouver les deux parties de ces éléments de part et d'autre de la

fente de séparation. Or, on ne constate jamais cela. La plaque fusoriale, puis le corpuscule intermédiaire de FLEMMING restent indivis au milieu de la fente de séparation qui provient d'un sillon de la surface cellulaire. Ce sillon s'approfondit et lorsqu'il arrive à l'endroit où se trouve la plaque fusoriale, ses deux lèvres s'écartent, laissant celle-ci intacte. Les deux cellules peuvent être depuis longtemps distinctes, séparées, que le corps intermédiaire de FLEMMIMG demeure encore indivis, sur le faisceau restant des fibres du fuseau, FIG. 42, 43, 44, 45. C'est là le dernier lien qui rattache encore entre elles les deux cellules-filles. Le corps intermédiaire doit plus tard dégénérer, mais nous ne l'avons pas constaté.

Quel est le rôle de cet organe passager et de la plaque fusoriale? Nous ne saurions le dire. La place de ce dépôt toujours dans la région équatoriale de la cellule, son apparition avant l'étranglement du corps cellulaire semblent indiquer qu'il est en rapport avec la bipartition de ce dernier, mais dans notre objet la plaque fusoriale ne sert certainement pas directement à la division du cytoplasme, FIG. 42-45.

Cette division est donc simplement le fait d'un étranglement du corps de la cellule. Si cet étranglement ne se produit pas, la cytodiérèse restera incomplète : le noyau se sera bien scindé, le cytoplasme restera indivis [1]; en un mot, il n'y aura pas multiplicatiou de cellules : on aura une cellule plurinucléée. Or, cette absence d'étranglement du corps cellulaire arrive souvent dans notre objet à la télophase, du fait de la présence des vacuoles graisseuses.

On comprend facilement en effet que ces dernières gênent l'action dynamique qui porte en ce moment la cellule à se diviser en deux moitiés ou mieux en deux parties, car les parties séparées peuvent être fort inégales, suivant qu'une des cellules-filles a reçu plus ou moins de substance chromatique en partage. C'est encore là un exemple de cette relation intime qui s'établit entre le noyau et le cytoplasme et que HERTWIG a mise en lumière.

Nous avons dit que les points d'épaississement qui apparaissent à la télophase sur les filaments interpolaires du fuseau sont des dépôts de substance. Ces dépôts se formeraient, comme dit LE DANTEC, dans la zone

[1] Ce cas a été aussi constaté par DEMOOR dans les jeunes poils staminaux de *Tradescantia virginica* que l'on soumet à l'action de divers gaz : acide carbonique, ammoniaque, chloroforme, etc. La division nucléaire s'achève comme dans les conditions normales, mais la division du plasma ne suit pas. La division cellulaire reste incomplète dans une de ses parties : le plasma.

calme qui s'établit à la rencontre des deux mouvements tourbillonnaires nouvellement reconstitués par la reformation de deux noyaux. Ce qui tend à faire considérer ces points chromatiques comme des dépôts, c'est le fait que le dépôt ne se forme pas et qu'il n'apparaît pas, par suite, de plaque fusoriale, ni de corps intermédiaire de FLEMMING, lorsque une vacuole graisseuse s'est formée dans la région fusoriale. La présence d'une substance inerte, comme la graisse, rompt les échanges interprotoplasmiques qui naissent du fait de la reconstitution des deux nouveaux noyaux et le dépôt résiduel de ces échanges ne peut s'effectuer, FIG. **37, 38, 40, 41, 46.**

Or, nous avons remarqué que lorsque ce dépôt résiduel, c'est-à-dire la plaque fusoriale et le corpuscule intermédiaire, ne se forme pas, l'étranglement du corps cellulaire, du cytoplasme, ne s'effectue pas non plus. La présence du premier semble conditionner la formation du second.

Enfin la formation de cellules plurinucléées peut encore avoir une autre origine : la présence de plus de deux centres cinétiques dans une cellule, c'est-à-dire la présence de plusieurs fuseaux. Ceci nous conduit à parler des *cinèses asymétriques pluripolaires.*

b) *Cinèses pluripolaires et question du centrosome.*

Si les cinèses que nous avons jusqu'à présent examinées sont excessivement nombreuses, celles que nous envisageons maintenant sont relativement plus rares et le plus souvent tripolaires.

Les FIG. **20, 22, 28-33** donnent quelques exemples de ces divisions anormales dans le tissu adipeux. Nous renvoyons le lecteur pour le détail concernant chacune de ces figures à l'explication des planches qui accompagnent ce travail.

La FIG. **48** représente une cellule migratrice du sang, un amœbocyte ou leucocyte présentant, lui aussi, une division anormale pluripolaire, mais la pluripolarité est plus accusée, puisqu'on peut constater dans cette cinèse un nombre plus considérable de centres d'échanges chromoso-plasmiques, les uns et les autres manifestés par un petit dépôt centrosomique.

Des détails que nous donnerons avec chaque dessin, des nombreuses observations que nous avons faites relatives aux centrosomes, tant dans les cinèses bipolaires que dans les pluripolaires, nous voulons essayer de tirer quelques conclusions générales à leur sujet et, des conséquences qui en découlent, tenter une théorie de cet organe cellulaire encore si énigmatique.

Par plusieurs points elle se rattache à celle que de nombreux et savants chercheurs ont déjà bâtie à ce propos; elle n'a donc pas le mérite d'être entièrement neuve, mais précisément parce qu'elle concorde sur certains points avec des opinions déjà émises, qu'elle s'appuie sur les faits reconnus en même temps que sur nos propres observations, nous voulons croire qu'elle ne sera pas complètement inutile et que, par les idées qu'elle pourra suggérer, elle contribuera comme toutes celles qui l'ont précédée à jeter un peu de clarté dans le mécanisme si complexe de la cellule.

α) **Faits observés.**

Nous rangeons les faits observés par nous sous un certain nombre de points.

1° Dans les cellules adipeuses, les œnocytes, et généralement toutes les cellules en division de *Pyrrhocoris*, les centrosomes, quand ils existent, sont petits, parfois réduits à un point excessivement ténu, coloré en noir par l'hématoxyline ferrique.

2° On ne remarque que très rarement un aster bien caractérisé rayonnant autour des corpuscules polaires, comme Gross les figure dans les cellules spermatocytaires de ce même insecte, *Pyrrhocoris*.

Une seule fois nous avons noté un aster bien défini dans le protoplasme relativement abondant qui entourait le pôle. Nous devons ajouter que dans ces mêmes cellules spermatocytaires de l'insecte jeune que nous avons examiné, nous n'avons pas non plus observé la sphère bien caractérisée représentée par Gross dans son travail sur la spermatogénèse chez *Pyrrhocoris apterus*. C'est probablement à un insecte parfait que cet auteur s'est adressé dans son étude. Cette différence dans le développement de l'aster tiendrait-elle au stade ontogénique des insectes étudiés? Dans les cellules adipeuses où peu de protoplasme environne le centrosome par suite du morcellement du cytoplasme par le dépôt graisseux, rien d'étonnant à ce que l'aster ne se développe pas ou que très peu. Que représente l'aster en effet, sinon la manifestation visible des échanges invisibles métaboliques qui se passent entre le centrosome et le protoplasme. Là où celui-ci est absent, rare, ou dont l'activité est ralentie, affaiblie par une surcharge de matières inertes, il est tout naturel que ces échanges soient abolis, ou du moins si peu intenses qu'ils ne se manifestent pas par l'orientation centrée des filaments cytoplasmiques.

3° Nous n'avons jamais observé la bipartition d'un centrosome au commencement de la division cellulaire. Nous n'avons observé les centrosomes d'une façon certaine qu'à la métaphase, ou du moins à la fin de la prophase, lorsque le fuseau bien constitué a acquis son maximum de grandeur et de netteté, et lorsque les masses chromosomiques provenant de la division longitudinale des chromosomes sont nettement polarisées vers les pôles de la cellule.

4° Les divisions cellulaires normales ont des centrosomes relativement plus gros que les cinèses anormales bipolaires.

5° Le centrosome peut souvent faire défaut dans les cinèses bipolaires à l'un ou à l'autre des pôles de la cellule, lorsque le cône au sommet duquel il aurait dû normalement se trouver, est tronqué par une vacuole graisseuse.

6° La pluripolarité avec plus de deux centrosomes se manifeste principalement dans les cellules hyperchromatiques.

7° Dans les cellules hypochromatiques ou à chromaticité normale plusieurs fuseaux peuvent exister, mais un certain nombre d'entre eux peuvent ne pas avoir de centrosomes.

8° La formation des centrosomes semble conditionnée par la grosseur du cône fusorial y aboutissant, cône qui lui-même est proportionnel à la masse chromatique, chromosomique, correspondante (1). Maintes fois nous avons constaté des variations sensibles dans la taille des centrosomes. Aux plus gros correspondaient des masses chromatiques plus considérables, aux plus petits, des masses chromosomiques plus faibles. Quand cette masse est très réduite, constituée par un, deux chromosomes, le fuseau peut bien exister, mais il n'y a pas de centrosome.

9° La disposition relative des masses chromatiques, leur orientation, règlent l'orientation des fuseaux, le lieu d'apparition des centrosomes, leur grosseur.

β) Conséquences de ces faits et essai général d'interprétation du centrosome et de la figure achromatique.

De ces faits nous tirons les conséquences suivantes relatives à la nature du centrosome et à son origine.

(1) Les figures de GALEOTTI (WILSON : *The cell* .., p. 98) représentant des mitoses pathologiques dans des cellules cancéreuses de l'homme, montrent aussi ce fait d'une façon frappante.

Pendant la division cellulaire des relations intimes existent entre la substance primordiale du noyau, la chromatine ou les éléments qui la représentent, les chromosomes, d'une part, le fuseau et les centrosomes d'autre part. Dans la cinèse, la formation des chromosomes s'accompagne *toujours* de la production de filaments fusoriaux, c'est-à-dire de l'orientation conique convergeant vers deux points opposés de la cellule des filaments du réseau protoplasmique. Les centrosomes, eux, peuvent être ou ne pas être, c'est-à-dire peuvent ne pas apparaitre sous une forme figurée. La figure fusoriale est donc la manifestation d'un fait universel, primordial au commencement de toute division mitosique. Le centrosome est la manifestation d'un fait moins répandu, secondaire au début de la cinèse.

Quel est ce fait universel et primordial dont le fuseau est l'expression? C'est le fait d'un métabolisme intense et polarisé qui se passe entre le noyau et d'une façon plus précise entre la substance essentielle, base de toute activité nucléaire, la chromatine et le cytoplasme. Ce n'est pas un fait nouveau dans sa nature, puisque toute la vie végétative de la cellule se résume en ces mots : échanges réciproques de matière entre le noyau et le cytoplasme, mais c'est un fait nouveau dans son mode, dans sa façon d'être, puisque pendant la vie reproductrice de la cellule, ces échanges deviennent *bipolarisés* de rayonnants qu'ils étaient. La vie de la cellule en ce moment de son existence se concentre pour ainsi dire, devient plus intense en deux points opposés, les pôles de la cellule. Cette intensité de vie ou, ce qui revient au même, cette intensité d'échanges nucléo-plasmiques se traduit par l'orientation fusoriale bipolarisée des filaments du réticulum cytoplasmique. Il y a deux cônes fusoriaux semblables opposés par leur base, parce que les chromosomes à la métaphase sont scindés longitudinalement et constituent deux masses chromatiques de volumes égaux, qui ont même activité métabolique vis-à-vis du cytoplasme environnant. Les échanges moléculaires entre les deux masses chromatiques, constituées par les chromosomes et le cytoplasme, sont de même valeur.

Mais les deux masses chromatiques sont-elles inégales, les échanges moléculaires chromoso-cytoplasmiques deviennent eux-mêmes d'intensité inégale, et cette inégalité se traduit à l'œil par une différence de volume des deux cônes fusoriaux. La masse chromosomique normale se divise-t-elle par une action mécanique ou par suite de troubles survenus dans le dynamisme cellulaire en plus de deux lots, chacun de ceux-ci deviendra le centre d'échanges métaboliques et, suivant leur masse, leur position, donnera nais-

sance à un fuseau achromatique, d'où l'apparition de cinèses à plusieurs fuseaux diversement orientés, de volume, de taille différents.

En un mot, la *figure fusoriale est l'expression morphologique visible des courants invisibles d'échanges qui se passent entre les chromosomes et le cytoplasme.*

Mais ces échanges ne sont pas unilatéraux. Entre ces deux éléments, chromosomes et cytoplasme, les échanges sont bicollatéraux.

La *figure astérienne* sous sa forme la plus simple (c'est-à-dire convergence d'un certain nombre de rayons vers un centre commun) est l'expression morphologique de ce courant métabolique inverse du premier, et allant du cytoplasme vers la masse chromatique du noyau.

Deux courants s'établissent donc inverses l'un de l'autre et centrés vers les pôles de la cellule, où ils se rencontrent. Nous devons donc imaginer ces points, ou mieux cette région, comme une région calme où nul mouvement tourbillonnaire ne se manifeste. Si donc les échanges de nature chimique qui se passent entre chromosomes et cytoplasme amènent la formation de dépôts chimiques, ce sera précisément dans ces deux régions calmes de la cellule qu'ils devront s'effectuer et apparaître. Ces dépôts chimiques ne sont autres que les éléments figurés dénommés *centrosomes ou corpuscules centraux.*

Ces dépôts peuvent revêtir les formes les plus variées ou des formes simples : un corpuscule unique, deux points, plusieurs granulations, un ou plusieurs bâtonnets; ou des formes complexes : nodule plus ou moins considérable à structure alvéolaire, système de nodules épais ou réunis par des branches contournées, ramifiées, etc.; toutes variétés de centrosomes décrits et figurés par les auteurs dans les cellules animales les plus diverses. Dans une même cellule en division, les deux dépôts centrosomiques peuvent être de grosseur différente.

Ces variétés de dépôts sont conditionnées par la forme du fuseau. Il n'y a là rien que de très naturel puisque la forme, le volume du fuseau dépendent de la nature, de l'intensité, de la direction des échanges nucléo-cytoplasmiques; or, ces caractères peuvent être des plus variables d'une cellule à une autre, d'une espèce de cellule à une autre.

Ces résidus chimiques des échanges chromoso-cytoplasmiques pourraient dans notre hypothèse ne pas se produire, soit que la nature des échanges fût telle qu'elle n'amenât la production d'aucun précipité chimique, soit qu'aussi la production de celui-ci passât inaperçue du fait de son

utilisation immédiate par la cellule. Ainsi s'expliqueraient les cas de division cellulaire où l'on n'a constaté aucun dépôt centrosomique aux sommets du fuseau.

Mais le plus souvent il y a au sommet des deux extrémités du fuseau un dépôt centrosomique Ce résidu des échanges chromoso-plasmiques n'est pas inerte et ne demeure pas inactif. A son tour il donnera lieu à des réactions chimiques, qui, comme tout à l'heure, se manifesteront parfois par l'apparition d'une figure spéciale rayonnante autour du centrosome : la *sphère attractive*. Cette figure manifesterait donc les courants *centrifuges* d'échanges qui s'établissent entre la substance centrosomique et le cytoplasme environnant, comme la *figure astérienne* représente les échanges métaboliques *centripètes* entre le cytoplasme et le dépôt centrosomique.

Dans les cellules riches en cytoplasme, ces échanges seront plus intenses, la sphère attractive sera bien développée. Dans les cellules pauvres en cytoplasme, elle le sera moins. Les *microsomes* qui parfois s'observent sur les filaments rayonnés de la sphère attractive sont des dépôts analogues au dépôt centrosomique, du moins quant à leur origine. Leur rôle semblerait au contraire nul, à l'inverse de celui du centrosome. L'aspect grossièrement granulé de la *substance corticale* de la sphère attractive pourrait aussi fort bien s'interpréter comme un précipité chimique qui s'est formé à la limite de la zone d'échanges centrifuges du centrosome avec le cytoplasme. Cette substance corticale serait constituée par une poussière de microsomes.

L'idée de considérer les centrosomes comme des dépôts locaux de substances qui par leur action chimique créent autour d'eux la formation astrale des filaments cytoplasmiques, a du reste été maintes fois exprimée par plusieurs auteurs, tels que Wilson, Morgan, Carnoy, Bütschli, etc. Nous la répétons seulement parce que nous voulons rassembler en un tout homogène quelques-unes des opinions émises sur les divers éléments de la figure achromatique et montrer que notre manière de comprendre le centrosome est appuyée de plusieurs côtés par des vues autrefois énoncées et d'anciennes observations.

En quoi consistent ces échanges qui se passent entre le centrosome et le cytoplasme? Nous inclinerions à les envisager comme des échanges matériels. La cellule utiliserait la substance centrosomique durant toute la cinèse. Une partie provenant de la décomposition apparaîtrait dans certains cas sous la forme de dépôts, les microsomes, qui dégénéreraient peu à peu

dans le plasma cellulaire. Autrement dit, la substance centrosomique s'userait au fur et à mesure qu'elle serait produite par l'activité chromosomique, c'est-à-dire l'activité du noyau. La cellule en dépenserait dans la mesure où le noyau la lui fournit. Si la dépense égale les recettes, la masse centrosomique demeure invariable durant toute la cinèse.

Si la dépense centrosomique est plus active ou moins active que la production de cette substance, celle-ci diminuera ou au contraire augmentera de volume, toutes variations que l'on a observées dans la masse du centrosome au cours de la division cellulaire.

Si l'utilisation du dépôt centrosomique se poursuit après l'instant où cesse la production, le centrosome disparaîtra après la cytodiérèse sans qu'il en demeure de traces dans la cellule : le centrosome sera dans ce cas un *organe temporaire*.

Si, au contraire, le dépôt continue à s'effectuer après l'instant où cesse la dépense de la substance centrosomique par la cellule, le centrosome demeurera sous une forme figurée pendant le stade de repos : le centrosome sera alors un *organe permanent* qui pourrait remplir diverses fonctions d'ordre cinétique dans la cellule, comme certaines opinions tendent à l'admettre par exemple dans les cellules ciliées, les spermatozoïdes.

Il est un fait qui, dans notre hypothèse, reste à expliquer, c'est la bipartition dans certains cas d'un centrosome primitivement unique en deux autres, qui, s'éloignant l'un de l'autre, viennent occuper les deux pôles de la cellule au moment de la métaphase.

D'abord, on peut se demander si dans les cas observés il y a bien eu bipartition. On a vu un centrosome, puis, dans une autre cellule, deux centrosomes côte à côte, on a tiré la conclusion : le premier s'est scindé en deux, sans montrer le processus de cette scission.

Pour nous, nous expliquerions cette soi-disante bipartition de la façon suivante.

Dès le commencement de la prophase, par suite des échanges métaboliques qui s'effectuent entre la masse chromatique du noyau et le cytoplasme, un dépôt se constitue en un point de la cellule, c'est le centrosome. Mais bientôt la bipolarisation de la cellule apparait : ce mouvement bipolarisé saisit tous les éléments de la cellule, en particulier les chromosomes qui sont constitués plus ou moins en ce moment en éléments homogènes et ont commencé à se scinder longitudinalement. La masse nucléinique primitive du noyau qui a produit, par suite des échanges entre elle et le cyto-

plasme, le premier dépôt centrosomique, en se scindant en deux, produira deux courants d'échanges intraprotoplasmiques. Ces deux courants seront d'abord presque de même direction et un second dépôt centrosomique se constituera dans la zone tranquille, où les courants moléculaires d'échanges inverses l'un de l'autre viendront se rencontrer. Ce second dépôt centrosomique sera donc voisin du premier. Mais le mouvement bipolarisé s'accentuant de plus en plus, ces dépôts centrosomiques avec leur aster s'écarteront progressivement l'un de l'autre, en même temps que les deux masses chromatiques, constituées du même nombre de chromosomes-frères, se délimitent mieux et s'ordonnent à l'équateur de la cellule dans une orientation bipolaire. Les centrosomes pourront néanmoins demeurer unis par quelques filaments cytoplasmiques orientés de l'un à l'autre et qui constituent, dans certains cas, plus tard, les filaments que l'on a appelés bipolaires. Ils seraient l'expression des actions moléculaires qui se passent entre les deux dépôts centrosomiques, dont la substance, certes la même chez l'un et l'autre, peut différer en concentration et en quantité.

En résumé donc, le centrosome d'après notre manière de voir ne serait *ni d'origine cytoplasmique, ni d'origine nucléaire exclusivement. Il proviendrait et du cytoplasme et du noyau* et serait un dépôt de substances chimiques précipitées, mais encore actives et utilisables, produit par l'action des échanges moléculaires métaboliques, qui ne cessent de se faire pendant la période reproductrice de la cellule comme pendant sa période végétative.

Quelle serait la nature de ces substances déposées qui constituent le centrosome? Ce sont d'abord, avons-nous dit plus haut, des substances encore douées d'énergie chimique, utilisables encore pour la cellule. Ce sont des centres d'échanges métaboliques, échanges qui peuvent être du reste si faibles qu'ils ne se manifestent pas à la vue par l'orientation des filaments du réticulum cytoplasmique en une sphère attractive. C'est le cas des cellules adipeuses de *Pyrrhocoris* comme en général celui des cellules *pauvres en cytoplasme.*

Prenant admet que le centrosome est un excès de chromatine que le métabolisme a créé. N'ayant pu trouver place dans le noyau qui possède son coefficient normal de cette substance, celle-ci s'est déposée dans le cytoplasme.

Nous sommes d'accord avec cet auteur pour admettre l'origine métabolique du centrosome. Nous ne le sommes pas lorsqu'il considère ce dépôt comme constitué par de la chromatine, car la raison qu'il donne ne peut s'appliquer à notre cas, c'est-à-dire aux cellules adipeuses de *Pyrrhocoris*, pas plus qu'à bien d'autres. Dans notre objet, les centrosomes sont si petits que la quantité de chromatine est insignifiante. On comprend dès lors avec peine l'incapacité du noyau à conserver ce léger excès de chromatine. On ne pourrait jusqu'à un certain point concevoir cette incapacité et l'inaptitude du noyau à renfermer un léger excès de chromatine, en sus de la quantité normale, que si la chromatine était vraiment l'idioplasme ou la substance servant physiquement de base aux caractères héréditaires. Or cela n'est pas prouvé et, dans cette question, le cytoplasme semble devoir être aussi pris en considération.

Le caractère histo-chimique que le centrosome présente de se colorer avec les mêmes colorants histologiques que la chromatine du noyau n'est pas non plus, croyons-nous, une raison suffisante pour homologuer la substance du corpuscule polaire à celle de la partie chromatique du noyau, car comme le dit Prenant lui-même : « certaines réactions de coloration du centrosome sont jusqu'à un certain point caractéristiques ».

Certains corps du reste prennent également les colorants de la chromatine pendant la cinèse, tels les microsomes, les dépôts d'épaississement [1] qui apparaissent à la télophase sur les filaments interpolaires et forment la *plaque fusoriale*, puis le *corps intermédiaire de* Flemming, après la coalescence de ces dépôts d'épaississement. Dira-t-on cependant que tous ces corps sont de la chromatine?

Si les centrosomes ne sont pas de la chromatine, de quelle substance peuvent-ils être constitués? Il est aussi difficile de le préciser chimiquement pour ces éléments qu'il l'est pour tout autre organe de la cellule.

Tout ce que nous pouvons dire, c'est que la substance centrosomique

---

[1] Les centrosomes et ces épaississements auraient ainsi même origine et ne seraient que des résidus des réactions intraprotoplasmiques, mais tandis que les épaississements fusoriaux de la plaque fusoriale seraient inertes, les dépôts centrosomiques seraient actifs. Les premiers, inertes, s'accroissent à mesure que le dépôt se poursuit. Les points d'épaississement grossissent et finissent ainsi par s'unir : c'est le *corps intermédiaire de* Flemming. Les seconds sont aussi des dépôts chimiques, mais actifs, qui se détruisent au fur à mesure de leur production en provoquant de nouvelles réactions intracytoplasmiques; de là généralement leur grosseur invariable et le rayonnement cytoplasmique qui les environne. Nous avons dit plus haut, page 103, comment il faut interpréter les cas où on observe un accroissement des centrosomes durant la division cellulaire.

est un résidu chimique extrêmement actif, peut-être à pouvoir fortement réducteur comme le suppose MATHEWS, dont l'action s'étend à toute la cellule et également en tous sens : le rayonnement homogène dont le centrosome est le centre l'indique. Ces échanges centrosomo-plasmiques sont d'une autre nature que les échanges chromoso-plasmiques. Ces derniers, dont provient le centrosome, sont en effet polarisés dans une direction.

Il faut considérer la substance centrosomique comme une substance *intermédiaire* du métabolisme nucléo-cytoplasmique au temps de la division et par conséquent *spécifique*, comme l'est le métabolisme lui-même dans chaque espèce de cellule. Nous arrivons ainsi à la même conclusion que HEIDENHAIN, qui par d'autres considérations soutient la spécificité de la substance des centrosomes.

Un *rapprochement* s'impose dès lors à l'esprit entre deux éléments de la cellule : *le centrosome et le nucléole.*

Le centrosome serait, pour la cellule, pendant la division un organe *analogue* au nucléole, pendant le stade de repos.

D'après HÆCKER, en effet, le nucléole doit être considéré comme un produit de sécrétion ou d'excrétion du noyau, dont la masse serait proportionnelle à l'intensité des échanges métaboliques qui ont lieu entre le noyau et le plasma cellulaire. La substance nucléolaire serait d'après l'expression de cet auteur un « Abspaltungsprodukt des Stoffwechsels », un produit résiduel, un produit intermédiaire du métabolisme, qui, pendant l'activité végétative de la cellule et du noyau, se dépose à côté ou sur les filaments chromatiques du noyau. Pendant le repos ou au commencement de la mitose ce produit est chassé hors du noyau comme une sécrétion, soit sous une forme dissoute, soit sous la forme figurée.

En précisant cette notion, MONTGOMERY HEIDENHAIN ont montré que la substance résiduelle nucléolaire était en rapport avec l'accroissement du noyau. Son rôle serait donc un *rôle végétatif.* Le rôle au contraire de la substance résiduelle centrosomique serait un *rôle cinétique.*

Elle pourrait être cette substance X réclamée par PRENANT, spécialement active, qui expliquerait la cytodiérèse *(Traité d'Histologie*, t. I, p. 257). Le centrosome remplacerait pendant la période de division le nucléole, dont le rôle serait limité à la période végétative de la cellule. Il est curieux en effet de constater que le plus souvent le ou les nucléoles disparaissent au commencement de la division au moment où apparaissent les centrosomes; et inversement, ceux-ci disparaissent souvent à leur tour, à la télophase, quand les nucléoles refont leur apparition.

Les centrosomes, comme nous l'avons dit, ne seraient pas les centres cinétiques primordiaux indispensables à la cellule pour entrer en division, mais leur présence figurée ou non est indispensable pour l'achèvement complet de cette division, de même que le nucléole ou, pour préciser, la substance nucléolaire serait nécessaire au noyau pour achever son complet développement.

On peut supposer que chez les Métazoaires, ce double rôle, végétatif et cinétique, aurait été dévolu par division du travail cellulaire, à deux organes différents : le nucléole et le centrosome, double fonction qui chez certains Protozoaires, tels que *Euglena* (Kenten), *Amœba* (Schaudinn), *Paramœcium* (R. Hertwig), *Spirochona gemmipara* (Balbiani), est accomplie par un seul organe intranucléaire, - le nucléole-centrosome. - Il y aurait eu chez les Métazoaires durant la phylogénèse perfectionnement du mécanisme cellulaire.

Les stades de passage de ce perfectionnement dans le dynamisme cellulaire se retrouveraient dans les Métazoaires, chez qui on a constaté la formation du centrosome aux dépens du nucléole, par exemple : *Ascaris* (Carnoy et Lebrun, Brauer), *Thysanozoon Brocchi* (Schockaert, Gérard), soit que les centrosomes demeurent dans le noyau, soit qu'ils soient chassés au dehors au temps de la division cellulaire.

LISTE BIBLIOGRAPHIQUE.

1909 *Berlese, A.* Gli Insetti. Vol. I. Milan.

1893 *Brauer, Aug.* : Zur Kenntnis der Spermatogenese von *Ascaris megalocephala;* Arch f. mikrosk Anat., XLII.

1897 *Carnoy, J. B.*, et *Lebrun, H.* : La fécondation chez l'*Ascaris megalocephala;* La Cellule, t. XIII.

1906 *Le Dantec, F.* : Traité de Biologie. Paris.

1895 *Demoor, J.* : Contribution à l'étude de la physiologie de la cellule (indépendance fonctionnelle du protoplasme et du noyau); Arch. de Biol., XIII.

1893 *Galeotti, G.* : Ueber experimentelle Erzeugung von Unregelmässigkeiten des karyokinetischen Processes; Beit. z. pathol. Anat. u. z. Pathol., XIV, 2. Iena, Fischer.

1906 *Gross, J.* : Die Spermatogenese von *Pyrrhocoris apterus* L ; Zool. Jahrb., Iena.

1899 *Hæcker, V.* : Praxis und Theorie der Zellen und Befruchtungslehre. Iena.

1895 » Die Vorstadien der Eireifung; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 45, p. 246.

1891 *Hansemann, D.* : Karyokinese und Cellularpathologie; Berl. klin. Wochensch., n° 42.

1907 *Heidenhain, M.* : Plasma und Zelle. 1. Lieferung, Iena.

1908 *Hertwig, R.* : Ueber neue Probleme der Zellenlehre; Arch. f. Zellforsch., t 1.

1887 *Hertwig, O.* et *R.* : Ueber den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien; Ienaische Zeitsch., XX.

1910 *Houlbert, C.* : Les Insectes. Encyclop. scient. Paris

1895 *Keuten, J.* : Die Kerntheilung von *Euglena viridis;* Zeitsch. f. wiss. Zool., LX.

1904 *Kowalski, J.* : Reconstitution du noyau et formation des chromosomes dans les cinèses somatiques de la larve de Salamandre ; La Cellule, t. XXI.

1907 *Mathews, A. P.* : A contribution to the chemistry of cell division, maturation and fertilization ; Americ. Journ. of Physiology, XVIII.

1907 *(a)* *Mercier, L.* : Sur la mitose des cellules à *Bacillus cuenoti ;* C. R. Ac. Sc., t. CXLV, p. 833.

1907 *(b)* » Recherches sur les bactéroïdes des Blattides ; Arch. f. Protistenkunde, Bd. IX, p. 346.

1908 *(c)* » Néoplasie du tissu adipeux chez des Blattes *(Periplaneta orientalis)* parasitées par une microsporidie ; Arch. f. Protistenk., XI.

1907 *Metanilkoff* : Zur Verwandlung der Insekten; Biol. Centralbl., XXVII.

1898 *Montgomery, Th. H.* : Comparative cytological studies with especial regard to the morphology of the nucleolus ; J. of Morph., v. 15.

1899 *Perez, Ch.* : Sur la métamorphose des Insectes ; Bull. Soc. entom. de France, nº 20

1904 *Prenant, Bouin* et *Maillard* : Traité d'Histologie. T. 1. Cytologie générale et spéciale. Paris.

1895 *Schaudinn, F.* : Ueber die Theilung von *Amœba binucleata ;* Sitz.-Ber. Ges. naturforsch. Freunde, Berlin, nº 6.

1901 et 1902 *Schockaert, R.* : L'ovogénèse chez le *Thysanozoon Brocchii ;* La Cellule, t. XVIII et XX.

1901 *de Sinety, R.* : Recherches sur la biologie et l'anatomie des Phasmes ; La Cellule, t. XIX.

1904 *Wilson, E.* : The cell in development and inheritance. New-York.

EXPLICATION DES FIGURES.

Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire à la hauteur de la platine du microscope. Les grossissements sont indiqués par le grossissement propre de l'objectif employé : 150 (semi-apochromatique 1/15 de Koritzka *à immersion homogène) multiplié par le grossissement de l'oculaire compensateur indiqué respectivement à chaque figure.*

FIG. **1.** × oc. 4. Cellule adipeuse au repos. Noyau ayant très peu pris l'hématoxyline ferrique, sauf les nucléoles qui se détachent fortement en noir sur le fond rougeâtre du noyau. Certains apparaissent environnés d'une auréole claire.

FIG. **2.** × oc. 4. Cellule adipeuse au repos binucléée. Les deux noyaux sont de taille très inégale Dans le gros noyau de très nombreux nucléoles, mais très différents de grosseur, tous ayant très fortement pris la coloration Fond du noyau très pâle. Le petit noyau très pâle sans nucléole Petite masse chromatique isolée dans le cytoplasme.

FIG. **3.** × oc. 4. Deux cellules adipeuses au repos, l'une uninucléée, l'autre binucléée, provenant l'une et l'autre de la division d'une même cellule-mère, mais dont les chromosomes se sont répartis inégalement aux deux cellules-filles. L'une est donc hyperchromatique par rapport à l'autre. A remarquer comment s'est faite la division du territoire cellulaire : elle s'est opérée proportionnellement à la masse chromatique qui s'acheminait respectivement vers les pôles de la cellule-mère.

FIG. **4.** × oc. 4. Une cellule adipeuse quadrinucléée provenant probablement d'une division pluripolaire. Cellule fortement hyperchromatique. Le volume du cytoplasme s'est accru dans les mêmes proportions. Comparer la grandeur de cette cellule avec celle des cellules fig. **1**, **4**, toutes dessinées au même grossissement.

FIG. **5.** × oc. 4. Noyau au repos d'une cellule adipeuse montrant la déformation du noyau par la pression qu'exercent sur lui les vacuoles graisseuses Huit nucléoles nucléiniens.

FIG. **6.** × oc. 4. Noyau montrant la forme sphérique que prend cet organe cellulaire dans la cellule adipeuse quand les vacuoles graisseuses n'exercent pas directement leur pression sur lui. Le cytoplasme environne tout entier le noyau. Commencement de la sortie du repos. Concentration du réticulum nucléinien. On distingue encore deux nucléoles nucléiniens.

FIG. **7.** × oc. 8. Noyau au commencement de la prophase; les nucléoles se désagrègent : leur substance passe dans les filaments qui par concentration donneront les chromosomes; particulièrement visible en *m*. — Remarquer le contour du noyau, qui, d'arrondi au repos, passe souvent à cet aspect par suite de l'augmentation des vacuoles graisseuses et la diminution de tension osmotique du suc nucléaire à ce moment de la prophase. Pas de membrane nucléaire différenciée.

FIG. **8.** × oc. 4. Cellule binucléée. Commencement de la prophase. Formation des chromosomes aux dépens du réseau quiescent. Les deux noyaux sont au même stade Les filaments sont fortement chromatiques. A gauche, un point ressemblant à un centrosome, peu marqué, *c* (?).

FIG. **9.** × oc. 8. Prophase. Formation des chromosomes. Les nucléoles *g* semblent concourir à la formation des filaments qui donneront à un stade ultérieur les chromosomes.

Le noyau moins pressé par les vacuoles a conservé sa forme arrondie, mais la tension osmotique s'égalise entre le suc nucléaire et le suc plasmatique. Quelques filaments, *a*, s'engagent dans le cytoplasme environnant, où ils pourront donner un chromosome qui se trouvera ainsi séparé des autres plus tard.

FIG. **10.** × oc. 8. Cellule hyperchromatique. Prophase. Le noyau commence à perdre sa forme arrondie. Cela est surtout visible à un plan supérieur. On n'aperçoit pas de centrosomes.

FIG. **11.** × oc. 4. Prophase. Chromosomes achevés et montrant, du moins certains, la division longitudinale. On en compte 16 en forme de bâtonnets droits ou courbes, et 8 en forme de petites sphères. La limite nucléaire tend à disparaître et un chromosome, de ce fait, est entraîné dans un des prolongements cytoplasmiques circumnucléaires.

FIG. **12.** × oc. 8. Prophase. Chromosomes formés et divisés longitudinalement; les deux formes de chromosomes s'aperçoivent; les uns sont en forme de petites sphères, les autres en forme de petits bâtonnets. Le chromosome isolé semble avoir été entraîné mécaniquement loin des autres, car il se trouve au plan inférieur de la coupe

FIG. **13.** × oc. 8. Chromosomes achevés. Deux chromosomes aberrants, *a*, situés à deux plans différents. Un seul centrosome bien visible.

FIG. **14.** × oc. 4. Métaphase. Un chromosome aberrant et plusieurs autres chromosomes formant un petit lot à part. Figure achromatique tout à fait incomplète par suite de la grande masse graisseuse. Un centrosome (?) tellement petit qu'il y a lieu de se demander si on a affaire à un vrai centrosome

FIG. **15**. × oc. 4. Métaphase régulière et dans la figure chromatique et dans la figure achromatique. Deux sortes de filaments dans le fuseau, les uns gros, plus chromatiques, les autres plus petits, moins achromatiques; deux centrosomes égaux relativement gros. Pas d'aster bien formé.

FIG. **16**. × oc. 4. Métaphase irrégulière, située à côté de celle dessinée à la FIG. **15**. Une partie des chromosomes *a* de la plaque équatoriale dégénèrent, ils sont moins chromatiques et, leur activité métabolique cessant, ils ne concourent plus avec les autres chromosomes à la formation de la figure fusoriale. Les filaments du fuseau sont ténus. Deux centrosomes, mais beaucoup plus petits que ceux du fuseau de la FIG. **15**. — Le centrosome *c'* présente cette particularité de n'avoir pas pris l'hématoxyline : il se présente sous la forme d'une petite sphère réfringente.

FIG. **17**. × oc. 4. Métaphase, asymétrique dans la figure achromatique, le cône fusorial supérieur est comprimé par les vacuoles graisseuses : sa surface est concave. Le cône fusorial inférieur est au contraire gonflé par une vacuole qui occupe son intérieur et lui donne presque la forme sphérique. Très belle fibrillation du fuseau. Deux centrosomes bien marqués intermédiaires comme grosseur entre ceux des FIG. **15** et **16**. — Le centrosome *c* présente une vague figure astrale autour de lui.

FIG. **18**. × oc. 4. Métaphase. Plaque équatoriale vue de profil. Les cônes fusoriaux sont incomplets à cause de la présence de vacuoles graisseuses. Celles-ci ont empêché la formation des dépôts centrosomiques. A remarquer la position très excentrique de la figure chromatique par rapport au territoire de la cellule.

FIG. **19**. × oc. 4. Métaphase. Figure achromatique asymétrique : n'existe que d'un côté de la plaque équatoriale. Une partie seulement des courants d'échange chromoso-plasmiques amène la formation du dépôt centrosomique, car une vacuole graisseuse en interrompt une partie. Aussi voit-on double fibrillation, une convergente dans un plan supérieur avec le centrosome, l'autre non convergente se terminant au bord d'une vacuole.

FIG. **20**, *a*, *b*. × oc. 4. Métaphase dissymétrique. Le dessin ne rend que très imparfaitement le degré d'asymétrie de cette division cellulaire; aussi avons-nous joint au dessin un schéma de cette curieuse métaphase vue en perspective, afin que le lecteur puisse mieux s'en rendre compte. La masse chromosomique dessine un cordon sinueux dans des plans différents et chacune des sinuosités crée une ou plusieurs figures fusoriales suivant la grosseur, la disposition des globules graisseux. Trois centrosomes, *c'* et *c''*, assez voisins l'un de l'autre.

FIG. **21**. × oc. 4. Métaphase. Figure achromatique, asymétrique. Le centrosome *c*, dans un plan optique supérieur, distant de 7 μ de celui du centrosome *c'*. Asymétrie encore par rapport à une ligne *cc'* passant par les deux centrosomes et

due aux vacuole *vv'* qui troublent la régularité des échanges chromosomiques. Le cours des échanges est détourné de la ligne normale. Les dépôts centrosomiques se déposeront par conséquent asymétriquement.

FIG. **22.** × oc. 4. Métaphase dissymétrique. Plaque équatoriale en deux parties, une grosse masse, *m*, une autre plus grêle, mais plus longue, *n*, dont la partie gauche se recourbe en boucle en remontant à un plan supérieur. Les deux masses chromatiques forment un seul fuseau à la partie supérieure terminé par un centrosome. — Plusieurs petits fuseaux à la partie inférieure sans centrosomes.

FIG. **23.** × oc. 4. Métaphase. Dissymétrie de la figure achromatique. Un chromosome aberrant, *a*, au milieu d'un peu de cytoplasme.

FIG. **24.** × oc. 4. Une des cellules en métaphase, plaque équatoriale vue du pôle ; à remarquer son irrégularité de contour due à la pression qu'exerce tout autour le liquide des vacuoles.

Cellule, en anaphase ; asymétrie dans la figure achromatique ; le cône fusorial supérieur est régulier, avec filaments gros et d'autres plus minces, terminé par un centrosome sans aster — le cône fusorial inférieur est incomplet, une vacuole graisseuse a gêné sa formation et le dépôt centrosomique n'a pu s'effectuer de ce côté. — Dans les masses chromosomiques, légère fente.

FIG. **25.** × oc. 4. Noyau en anaphase. Les chromosomes-frères s'écartent les uns des autres, mais seulement vers une de leurs extrémités, qui sont par ailleurs dans des plans relativement éloignés : 9 μ. Par l'autre extrémité, les chromosomes-frères sont encore unis dans un plan intermédiaire à ceux des extrémités. De cette disposition de la masse chromatique naît une disposition embrouillée des fuseaux. Un centrosome seulement visible, *c*, très petit.

FIG. **26.** × oc. 4. Cellule en métaphase. Commencement de l'anaphase. Vue passant par un plan optique moyen par rapport à l'épaisseur de la coupe, qui est de 10 μ. Les deux masses chromosomiques sœurs forment un x, étant encore unies par leur milieu. Les deux branches inférieures de l'x plus courtes que les deux branches supérieures. Un cône de filaments achromatiques correspond à chaque groupe — le fuseau inférieur est plus petit que le fuseau supérieur, qui présente un centrosome excessivement petit, *c'* — un autre centrosome, *c*, qui n'a pas de symétrique. — A un plan un peu supérieur un chromosome aberrant, *a*. — A ce même plan un certain nombre de chromosomes plus ou moins réunis en une masse homogène et représentés plus vaguement sur la figure. Ils donnent de petits fuseaux qui se superposent à celui dessiné à droite; ils n'ont pas été dessinés pour ne pas compliquer la figure.

FIG. **27.** × oc. 4. Cellule en métaphase. Plaque équatoriale vue obliquement : aussi le dessin très difficile ne rend que très imparfaitement la réalité. Un

centrosome unique, *c*; le symétrique n'a pu se former par suite de la présence d'une vacuole; à un plan inférieur, des chromosomes, *a*, *a'*, aberrants de la masse principale, commencent à dégénérer chromaticité plus faible; une vague striation, témoignage de leur activité métabolique, s'aperçoit dans le cytoplasme qui entoure les chromosomes *a'*.

FIG. **28.** × oc. 4. Cellule hyperchromatique en métaphase. — Vue équatoriale ressemblant à une vue polaire. Trois centrosomes, *c*, *c''*, dans un même plan supérieur, *c'* dans un plan inférieur distant de 6 µ du précédent. *c*, *c'*, de même taille, plus colorés et plus gros que *c''* — Dans un plan inférieur au fuseau du centrosome *c''*, un quatrième fuseau sans centrosome.

FIG. **29.** × oc. 4. Cellule hyperchromatique. Métaphase très dissymétrique. Une grosse partie de la chromatine, *m*, disposée en amas superposés sur la droite de la cellule. L'autre partie s'étend vers la gauche en une bande régulière, *m'*. Cette portion de la masse chromosomique est dans un plan inférieur à celui de la portion droite et une vacuole, *v*, interposée au centre même de la cellule. Le fuseau est de ce fait plus épais dans la partie droite que dans la partie gauche. Une vacuole, *v'*, à la partie supérieure empêche même la partie supérieure gauche du fuseau de se former. Deux centrosomes, *c*, *c'*, à ce fuseau. L'extrémité gauche de la bande chromosomique, *m'*, développe un petit fuseau spécial, terminé par deux autres centrosomes très petits, *c''*, *c'''*.

FIG. **30.** × oc. 4. Cellule hyperchromatique. Métaphase pluripolaire. Trois centrosomes : *c''* dans un plan supérieur aux plans des deux autres; *c'* dans un plan inférieur ; *c* dans un plan moyen. La partie nucléaire en **V** dans un plan bien supérieur à la partie nucléaire morcelée. Dépôt centrosomique, *c''*, formé par les deux masses chromatiques qui constituent les branches du **V**, symétrique par rapport à elles et plus gros que les dépôts centrosomiques, *c'* et *c*, constitués respectivement par une seule des branches du **V**.

FIG. **31**. × oc. 4. Cellule en métaphase. Ressemblant un peu à la cellule dessinée FIG. **26.** Une partie des chromosomes, au nombre de trois, font bande à part et déterminent chacun pour leur compte de petits fuseaux qui convergent à la partie inférieure seulement vers un centrosome, *c''*; vers ce même centrosome convergent les filaments d'un fuseau partant de la branche inférieure droite de l'x incomplet que forme toute la masse chromatique Deux autres centrosomes, *c*, *c'*, — les trois, très petits.

FIG. **32.** × oc. 4. Cellule hyperchromatique en métaphase. Trois masses chromosomiques situées à des plans optiques différents : *m* à un plan supérieur ; à cette masse de chromosomes correspondent le centrosome *c* et le centrosome *c'*. — *m'* à un plan un peu inférieur à celui de *m*; à cette masse correspondent le centrosome *c'* et le centrosome *c''*, mais ce dernier pour une portion seulement de la masse *m'*,

la portion gauche. — m'' à un plan plus inférieur encore; à cette troisième masse correspond un seul centrosome, c''. — Le centrosome c', correspondant à la plus grande masse chromatique, est le plus gros des trois.

FIG. **33**. × oc. 4. Cellule hyperchromatique. Métaphase pluripolaire : trois centrosomes : c, c' dans un plan supérieur à c''; la masse chromatique m dans un plan supérieur au restant des chromosomes. Figure excessivement asymétrique et que le dessin ne peut rendre qu'imparfaitement.

FIG. **34**. × oc. 4. Cellule hyperchromatique en métaphase. Les deux masses chromatiques sont séparées l'une de l'autre; elles doivent représenter respectivement l'une et l'autre un noyau. Cette cellule serait une cellule binucléée dont les deux noyaux se divisent simultanément, mais l'orientation des plaques équatoriales serait différente pour l'une et l'autre masse chromosomique. celle de droite, m, est vue de profil; celle de gauche, m', est en vue polaire. Les deux centrosomes, c, c', ne s'aperçoivent donc que pour la masse m.

FIG. **35**. × oc. 4. Anaphase. Figure fusoriale asymétrique. Masses chromosomiques inégales par suite d'une partie des chromosomes qui s'est égarée en route durant leur ascension vers les pôles. Un seul centrosome, du côté où le fuseau est achevé.

FIG. **36**. × oc. 4. Cellule en métaphase. La plaque équatoriale scindée en deux parties, chacune possède vers le bas un cône fusorial sans centrosomes; celui du haut commun aux deux masses chromosomiques de la plaque équatoriale et terminé par un centrosome, c. — A un plan légèrement supérieur, un amas de chromosomes destinés, semble-t-il, à dégénérer; car ils ne paraissent pas participer au mouvement cinétique.

FIG. **37**. × oc. 4. Télophase. Les deux centrosomes, c, c', encore visibles. Autour de c un petit aster. Les filaments du fuseau interpolaires dérangés de leur rectitude par un dépôt graisseux qui commence à se former à l'intérieur du fuseau. Tassements polaires encore homogènes.

FIG. **38**. × oc. 4. Télophase plus avancée que la précédente. Les tassements polaires commencent à se vacuoliser. Les deux masses chromatiques sont de volumes inégaux. Les filaments interpolaires sont, plus encore que dans la figure précédente, dérangés de leur course rectiligne, toujours du fait de la même cause : la présence d'une vacuole graisseuse qui s'étend jusqu'au tassement polaire de gauche et façonne par sa pression le noyau en formation. Les centrosomes ont disparu.

FIG. **39**. × oc. 4. Télophase. Le tassement polaire m en forme de **V**, dirigé suivant l'axe de la cellule; la branche droite est à un plan supérieur à celui de la branche gauche; celle-ci est fortement vacuolisée et baigne en partie dans une vacuole; la branche droite est au contraire encore homogène comme le tassement

polaire *m'*. Le tassement polaire *m* doit cette position allongée suivant l'axe de la cellule à un pivotement pendant l'ascension polaire. Plus de centrosomes. Plus de traces de fuseau.

FIG. **40.** × oc. 4. Télophase dissymétrique, et quant à la forme des deux tassements polaires et quant à la masse de chromosomes répartie dans chacun des noyaux. En *a*, chromosome aberrant environné d'un peu de cytoplasme. Le tassement polaire en **V** commence à se vacuoliser. Filaments du fuseau peu visibles. L'aspect fibrillaire disparaît. Une vacuole graisseuse allongée au milieu des restes de la figure achromatique.

FIG. **41.** × oc. 4. Télophase. Les masses chromosomiques inégales à chacun des pôles, d'où formation de deux noyaux inégaux. Commencement de vacuolisation. Deux chromosomes ou deux masses chromosomiques aberrantes, *a*, entourées d'une zone plus claire nettement séparée du protoplasme environnant. Les masses chromatiques semblent dégénérer : chromaticité moindre.

FIG. **42.** × oc. 4. Télophase. Vacuolisation des tassements polaires qui ont pivoté et tendent à prendre une position suivant l'axe longitudinal de la cellule. Le fuseau est réduit à quelques filaments resserrés dans le plan équatorial de la cellule. Petite plaque fusoriale intercellulaire. La cellule est scindée par un sillon et un étranglement. Les deux bords du sillon s'écartent l'un de l'autre au niveau de la plaque fusoriale, formant comme les deux bords d'une boutonnière dont la plaque fusoriale occupe le centre. — Un centrosome, *c*, encore bien visible.

FIG. **43.** × oc. 6. Télophase pour montrer l'aspect irrégulier, lobé que peuvent prendre les noyaux. Vacuolisation de la masse des chromosomes; dans la cellule de gauche cette vacuolisation est plus avancée dans la portion de la masse qui se trouve à un plan inférieur. Les nucléoles nucléiniens ont refait leur apparition, on en compte neuf, ils sont fortement chromatiques à l'inverse du réseau nucléaire qui devient acidophile et a pris la coloration rouge-Bordeaux. — La séparation des deux cellules-filles s'effectue par un sillon dont les deux bords s'écartent de part et d'autre du « corps intermédiaire de Flemming », qui est ici très volumineux.

FIG **44.** × oc. 4. Télophase. La séparation des cellules-filles est complète, mais elles demeurent encore réunies par le faisceau resserré des fibres fusoriales sur lesquelles se trouvent le dépôt d'épaississement qui constitue le « corps intermédiaire de Flemming ». Celui-ci ne participe pas à la séparation des deux cellules, il se trouve en effet entre les deux cellules-filles déjà complètement séparées et lui-même est indivis. Les deux centrosomes encore visibles, *c*, *c'*.

FIG. **45.** × oc. 4. Télophase. Formation de deux cellules-filles, dont l'une binucléée, l'autre uninucléée. Commencement de la vacuolisation dans chacun des tassements chromatiques. Comme dans la figure précédente, la séparation des deux cellules-

filles est complète, alors qu'il reste encore entre les deux un pont d'union formé des restes des fibres fusoriales. Sur celles-ci, entre les deux cellules distinctes, se voient deux microsomes chromatiques; dépôts d'épaississement des filaments, qui en grossissant et se réunissant donneront le « corps intermédiaire de Flemming ». A remarquer comment s'est faite la séparation des masses cytoplasmiques : proportionnellement aux masses chromatiques.

FIG. **46.** X oc. 4. Télophase asymétrique. — Une des cellules-filles renferme deux masses chromosomiques; l'autre une seule. Commencement de la vacuolisation de ces masses. Une vacuole graisseuse occupe le milieu des filaments connectifs et les dérange de leur parcours. Les centrosomes invisibles. Nulle trace de bipartition du corps cellulaire. — Formation d'une cellule trinucléée.

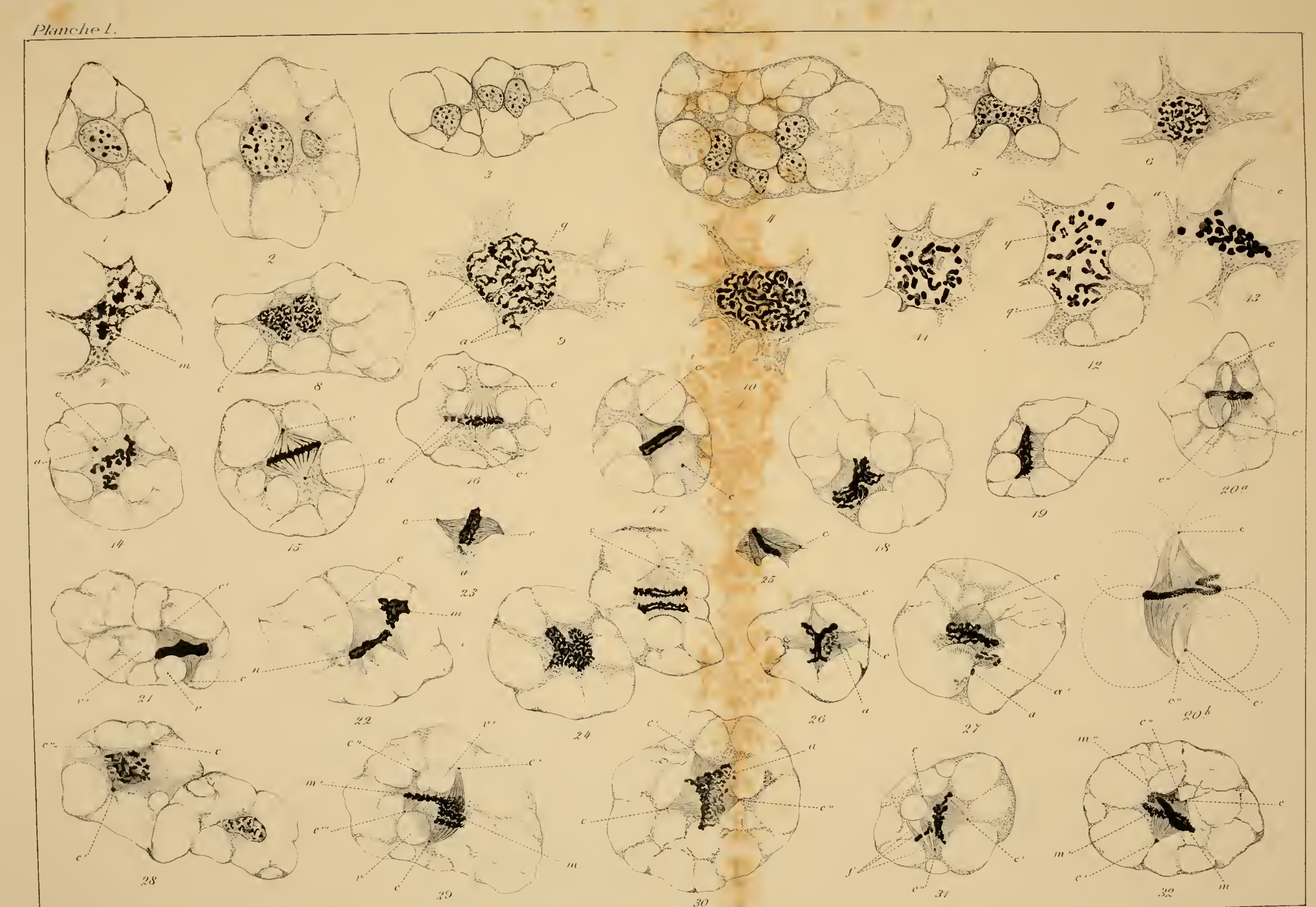
FIG. **47.** X oc 4. Télophase. Vacuolisation des tassements polaires. Quatre masses chromatiques situées deux par deux en des plans différents; celles de droite, *d*, *d'*, dans le plan supérieur, réunies par quelques filaments fusoriaux au milieu desquels on distingue très vaguement une ébauche de plaque fusoriale; les masses de gauche, *g*, *g'*, dans le plan inférieur, réunies entre elles par quelques minces filaments fusoriaux et à peine réunies aux masses *d*, *d'*; que cette mince liaison vienne à se rompre par le fait des vacuoles graisseuses, chacune des masses en se vacuolisant donnera respectivement un noyau. On aura finalement une cellule quadrinucléée comme celle représentée fig. **4.** On ne distingue aucun centrosome.

FIG **48.** X oc 12. Amœbocyte en division. Cinèse pluripolaire, cinq centrosomes. On ne distingue pas d'asters. Masse chromatique très irrégulière, disposée dans des plans très différents. La disposition de chacune des portions de la masse chromatique règle la formation, la disposition, de la figure achromatique et du centrosome correspondant.

FIG. **49.** X oc. 8. Microorganisme parasite implanté dans la lame conjonctive interne, *l. c. i.*, bordant le corps adipeux. Il mesure 7 μ 8 de longueur, 3 μ 5 de largeur. Formé de deux parties à peu près de même taille, séparées par une portion plus claire légèrement concave du côté implanté dans la lame conjonctive. A l'extérieur, correspondant à cette zone, un sillon en étranglement. Le bord est plus clair et comme ponctué. A la partie antérieure, deux petites taches en forme de boules plus grosses que les points bordants, *p. b.* Le corps est coloré en noir : on ne distingue aucune structure.

TABLE DES MATIÈRES.

Planche I.

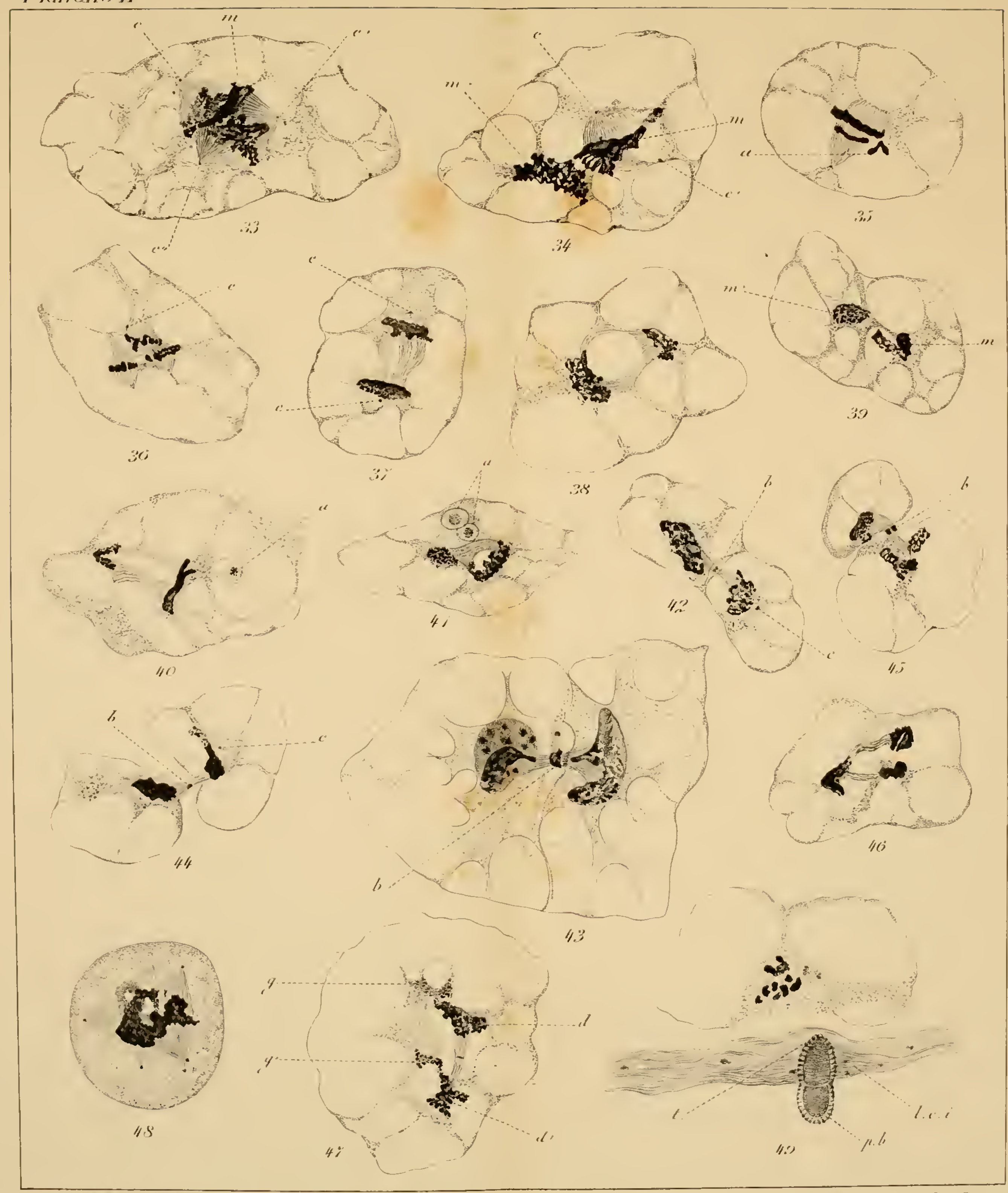


J. Kowalski ad nat. del.

Lith De Tollenaere frères Brux.

F. Biesemans Sculp

Planche II



De Tollenaere frères Brux

Merocystis kathæ Dakin

Une Aggrégate de Buccinum undatum

PAR

Charles FOULON

ÉTUDIANT EN MÉDECINE.

Institut de Zoologie, Louvain. – Laboratoire du Prof. Debaisieux.

(Mémoire déposé le 1 août 1914.)

†

Ce nous est un pieux devoir de rappeler la carrière débutante d'un de nos meilleurs élèves et la mort glorieuse d'un héroïque soldat.

CHARLES FOULON travailla pendant plusieurs années en notre laboratoire ; esprit curieux, perspicace et passionné de science, il ne tarda pas à se distinguer, et ses premières recherches faisaient présager un bel avenir.

Le 1er août 1914 il fut rappelé par la mobilisation ; avant de partir, il nous confia le manuscrit de cette étude sur le *Merocystis*; ce travail échappa heureusement à la sauvage destruction de notre laboratoire privé. Le 21 juin 1917, il fut tué par un obus dans l'hôpital de Hoogstade, tandis qu'il prodiguait ses soins aux blessés. Sa vaillante conduite lui avait valu la décoration de l'Ordre de Léopold et la Croix de guerre.

Il n'a pas eu la joie de voir paraitre sa première œuvre, mais il a obtenu la gloire qui couronne les braves ; nous gardons le regret d'avoir perdu un excellent élève, mais nous avons la fierté de savoir qu'il est mort dans l'héroïsme du devoir.

Paul DEBAISIEUX.

Merocystis kathæ Dakin

UNE AGGRÉGATE DE BUCCINUM UNDATUM

INTRODUCTION.

Le protozoaire dont nous avons entrepris l'étude fut découvert par Dakin (11) dans l'organe rénal des Buccins de Port-Erin (I. O. M.), et déterminé par lui comme une coccidie polysporocystidée, qu'il appelle *Merocystis kathæ*. Ses observations concernant ce parasite nous ont paru susceptibles d'une interprétation différente; nos recherches nous ont fait relever une quantité de faits nouveaux tant au point de vue du cycle évolutif qu'au point de vue cytologique, et nous avons été conduit à attribuer à cette espèce des caractères différents de ceux donnés antérieurement. Il en résulte que cette espèce acquiert un rang nouveau dans la classification des protozoaires.

Le *Merocystis* doit être considéré comme une Aggrégate, et comme telle, son étude offre un intérêt spécial; jusqu'à présent les Aggrégates n'étaient connues que par des espèces parasites de quelques céphalopodes; rarement on y trouve des infections pures, ce qui rend l'étude difficile. Le *Merocystis* nous offre à ce point de vue un matériel de choix, et de plus son étude révèle plusieurs détails qui jettent un peu de lumière sur la signification de certains éléments de structure et sur le rang systématique des Aggrégates.

Les Aggrégates sont des parasites à hôtes alternants; dans le buccin, on trouve tous les stades de reproduction sexuée; la schizogonie y fait complétement défaut. L'hôte intermédiaire dans lequel la reproduction asexuée a lieu ne put être découvert jusqu'à présent, toutes les recherches faites à Port-Erin étant restées infructueuses. Si les circonstances le permettent, elles seront reprises à la saison prochaine.

Le matériel que nous avons employé fut fixé et coloré de manières diverses; les meilleurs résultats furent obtenus par la fixation au liquide de Bouin et la coloration à l'hématoxyline de Heidenhain, suivie de coloration au rouge Congo.

Les fixations au Benda, 48 heures ou huit jours, et au sublimé alcool furent également employées; les colorations à l'hématoxyline de Delafield diluée, avec mordançage à l'alun de fer et différenciation dans le même milieu ou dans l'eau acidulée, nous ont donné de bons renseignements sur la structure du caryosome; les colorants de Giemsa, de Borrel (rouge Magenta et picro-indigo-carmin), de Mann et de Dobell (14*a*) (hématéine alcool) furent employés à titre de contrôle.

Nous avons pu obtenir des buccins infectés grâce à l'amabilité de M. Chadwick, qui a bien voulu nous envoyer de Port-Erin du matériel fixé; nous lui adressons ici tous nos remerciements, et nous tenons à remercier spécialement M. le Prof. Debaisieux, qui a mis à notre disposition du matériel qu'il a récolté sur place et qui nous a aidé et encouragé de ses conseils.

Dans les pages qui vont suivre, nous exposerons d'abord nos observations personnelles; elles ont trait à la reproduction sexuée seulement. Nous envisagerons successivement l'évolution :

1) dəs macrogamètes ;

2) des microgamétocytes ;

3) de la sporulation.

Chacun de ces chapitres sera suivi de la comparaison de nos résultats avec ceux des autres auteurs.

Dans une seconde partie, nous discuterons ces observations au point de vue :

1) du cycle d'évolution ;

2) du rang systématique à attribuer à l'espèce, et à la famille des Aggrégates.

Nous terminerons, enfin, en résumant brièvement nos conclusions.

Au cours de ce travail, il nous arrivera souvent de toucher à l'une ou à l'autre question de cytologie; nous en réservons l'étude approfondie pour un travail ultérieur; cela nous permettra d'appuyer nos conclusions sur des observations étendues à d'autres genres d'Aggrégates ; nous n'avons pas pu encore réunir tout le matériel désirable pour ce travail.

A. OBSERVATIONS PERSONNELLES.

1. Macrogamète.

Les plus jeunes parasites que l'on rencontre dans l'organe excréteur du buccin sont tous des gamètes. Il paraît certain qu'ils proviennent de mérozoïtes, eux-mêmes le fruit d'une schizogonie qui a lieu, très probablement, dans un hôte intermédiaire. Les mérozoïtes, charriés par le torrent circulatoire, s'arrêtent dans le rein, où ils évoluent.

Les premiers stades qu'il nous fut possible de reconnaitre comme appartenant certainement au parasite, sont des éléments de 12 à 20 μ de diamètre. Il ne nous fut pas possible de déterminer le sexe de ces parasites jeunes; ce n'est qu'à la fin de l'accroissement qu'il nous fut donné de le reconnaître; nous donnerons à propos de la microgamétogonie les caractéristiques qui la distinguent de la macrogamétogonie.

Les jeunes stades, FIG. 1-3, sont entourés de noyaux hôtes, parfois nombreux, tassés à la périphérie, parfois hypertrophiés et entourant plus ou moins le parasite, FIG. 5. Celui-ci possède un gros noyau, complétement rempli de granules et de bàtonnets chromatiques, supportés eux-mêmes par un substratum légèrement colorable; il contient, entouré d'un zone libre, un caryosome intensément colorable, FIG. 1. Le caryosome est souvent logé à la périphérie du noyau; dans un cas nous avons trouvé deux granules caryosomiens logés dans un même noyau, FIG. 3. Le protoplasme, comparativement au noyau, est peu développé, FIG. 1-5.

La première modification qui apparait, et qui apparait très tòt, est la disposition que prennent les éléments chromatiques du noyau. Ils se logent à la périphérie, tout contre la membrane nucléaire, FIG. 1, 2. En même temps l'accroissement commence et il affecte beaucoup plus le protoplasme que le noyau. Pendant toute la période d'accroissement, la chromatine périphérique reste apparente. Ces éléments, observés par DAKIN (11), doivent sans doute être homologués à ceux que SIEDLECKI (98) observe dans les » Coccidies de la Seiche « et à ceux que MOROFF (08) décrit chez l'*Aggregata legeri* comme filaments achromatiques entremèlés d'éléments chromatiques et se disposant à la périphérie du noyau.

Tandis que l'accroissement progresse on se rend mieux compte de la structure du protoplasme; elle est réticulo-alvéolaire, visible surtout dans les préparations colorées à l'hématoxyline. Il est bourré de fins granules de toutes formes, très réfringents. Au voisinage du noyau, le réseau présente une disposition plus ou moins radiée; ses travées sont en connexion avec la périphérie du noyau à contours dentelés, FIG. 6, 9.

Peu à peu le parasite grandit; il atteint un diamètre de 100 μ et le dépasse pour atteindre un diamètre maximal de 150 à 200 μ.

Une structure curieuse se voit dans le caryosome; il est formé de deux assises chromatiques de colorabilités différentes : l'une périphérique, intensément colorable par l'hématoxyline; l'autre interne, moins colorable, FIG. 4. Dans la sphère interne il existe encore un amas chromatique, FIG. 5-8, formé souvent d'un granule central et d'une sphère périphérique, FIG. 7. Enfin, dans bien des cas la partie externe la plus chromatique présente en un point de la périphérie un orifice en forme d'entonnoir, faisant communiquer les régions centrales avec les parties périphériques, FIG. 5, 6, 8, et souvent aussi une zone externe, faiblement chromatique, englobe tout le caryosome, FIG. 5, 6, 8, 9.

En résumé, le caryosome sous sa forme la plus complexe présente au centre un élément très chromatique à granule central, entouré à peu de distance d'une première sphère chromatique. Cette partie centrale plonge dans un espace plus clair à structure nettement radiée, FIG. 7. Les assises périphériques sont : une épaisse enveloppe très chromatique percée d'un orifice et entourée elle-même d'une assise moins colorable, FIG. 6.

En dehors du caryosome, le noyau contient des éléments chromatiques plus ou moins filamenteux, chargés de granules; ils sont situés à quelque distance de la membrane et reliés au caryosome par de très fines travées disposées radiairement, FIG. 5, 7. En dehors de ces éléments, le noyau est clair et pas colorable.

A la fin de l'accroissement, le noyau est le siège de modifications intéressantes. D'abord l'amas chromatique central du caryosome se désagrège, FIG. 9, 10; en même temps tout le noyau, en dehors des éléments chromatiques, devient uniformément colorable par les colorants protoplasmiques (rouge Congo), FIG. 10, 11, etc. Ce fait semble être dû à ce que le contenu de la sphère interne du caryosome difflue dans le noyau, FIG. 8, et est en harmonie avec ce qui a été décrit par MOROFF (08). Cet auteur observe que la substance centrale du caryosome se dissémine avant la partie péri-

phérique et il croit même que le passage se fait par de nombreux orifices de l'enveloppe corticale. Le caryosome se trouve dès lors réduit à la sphère chromatique intensément colorable; elle est de structure assez homogène avec de nombreux alvéoles; au centre traînent quelques débris chromatiques, FIG. **10-12**.

Les éléments chromatiques du noyau, qui étaient restés groupés près de la membrane, s'éparpillent un peu, FIG. **10**, **11**, puis se disposent autour du reliquat caryosomien, FIG. **13**. Finalement ce dernier reste du caryosome disparaît lui-même; on dirait que sa substance se porte sur les éléments chromatiques du noyau, venus se disposer autour de lui, FIG. **13**, **14**, et à la fin de l'accroissement le volumineux noyau du macrogamète possède un contenu uniformément colorable, très finement granuleux qui donne l'impression d'un coagulum très délicat ; au centre se trouve une sphère creuse formée de tous les éléments chromatiques, courts filaments entortillés et entremêlés de granules, FIG. **14**. Toute trace de caryosome a généralement disparu.

Les observations que nous avons pu faire sur la structure du caryosome et l'édification des éléments chromatiques qui participeront aux cinèses ultérieures concordent en bien des points avec les observations d'autres auteurs.

La formation du caryosome par deux substances de colorabilité différente fut souvent observée chez les Aggrégates : LABBÉ (96), SIEDLECKI (98-05-07), LÉGER et DUBOSCQ (08), MOROFF (08) et également chez le *Merocystis kathæ* par DAKIN (11).

L'origine de ces deux substances est décrite de façon différente suivant les auteurs. LABBÉ (96), SIEDLECKI (07) et MOROFF (03) croient à la différenciation de la zone centrale à l'intérieur du caryosome primitif; par contre, LÉGER et DUBOSCQ (08) admettent la pénétration d'un caryosome sidérophile dans le nucléole de plastine. Il nous paraît fort peu probable que cette description se vérifie dans l'espèce qui nous intéresse; mais nous n'oserions pas l'affirmer, car notre conviction se base sur l'aspect de très jeunes stades du caryosome, et la formation de ceux-ci aux dépens du mérozoïte nous fait défaut. De même nous n'osons pas nous prononcer quant à la nature des diverses assises chromatiques du caryosome. Touchant cette question, les avis sont également partagés. LABBÉ (95) et SIEDLECKI ad-

mettent que la couche périphérique est formée de chromatine vraie ou basichromatine, colorable par les colorants basophiles, tandis que la zone interne (oxychromatine) serait à rapprocher de la pyrénine ou de la plastine.

Léger et Duboscq (08) admettent une constitution à peu près inverse, et Moroff (08) est d'un avis en quelque sorte intermédiaire, en ce sens qu'il n'admet pas de distinction nette entre ces chromatines différentes, qui se transformeraient l'une dans l'autre.

Nos colorations différentielles furent trop peu concluantes pour que nous puissions nous prononcer, et d'autre part nous croyons qu'il est prématuré d'aborder cette discussion aussi longtemps que les rôles respectifs de ces différents constituants ne seront pas établis et que leur homologie dans de nombreux objets ne sera pas mise en évidence.

Quant au rôle du caryosome total, il est partiellement mis en évidence par son évolution dans le macrogamète et par celle que nous décrirons plus loin, à propos des microgamétocytes. Une partie de sa substance se porte sur les filaments peu colorables du noyau (filaments achromatiques ou de plastine de Moroff), éléments qui prendront part aux cinèses. Cette interprétation concorde assez bien avec ce que Moroff (08) observe chez *Aggregata legeri*. Cet auteur croit, sans oser l'affirmer, à la persistance des éléments chromosomiens; ceux-ci viennent se grouper autour des sphérules chromatiques et se chargent à leurs dépens de très fins petits granules colorables.

Léger et Duboscq (08) observent un » spirème pâle « dès le début de la désintégration nucléolaire dans le schizonte. Il devient plus colorable par absorption de substance nucléolaire dissoute; ensuite, du reliquat du caryosome il sort un » spirème » très colorable et celui-ci bientôt disparaît, tandis que le spirème pâle devient beaucoup plus colorable. Cette description, réserves faites pour le second spirème, s'harmoniserait assez bien avec ce qui s'observe dans le *Merocystis kathæ*; par contre Dobell (14*b*) décrit que le caryosome donne naissance à une quantité de granulations fines qui forment un amas de petits grains et filaments très fins qui sont des » chromosomes » irréguliers. Disons enfin que Dakin (11) croit à l'expulsion du caryosome dans le protoplasme.

Il ressort de nos observations que dans le cas présent l'un des rôles du caryosome est certainement de servir de réserve chromatique, réserve qui est répartie aux chromosomes au moment des cinèses. Aussi, malgré les objections de Léger et Duboscq (08), croyons-nous pouvoir considérer le

caryosome comme formé de trophochromatine par opposition à l'idiochromatine du noyau; mais nous ne voulons donner à ces termes qu'une signification restreinte, applicable seulement au rôle fonctionnel des éléments chromatiques à un moment donné, et non pas le sens absolu qui entraîne le dualisme nucléaire (Schaudinn) ou la signification que leur donne Siedlecki (05) quand il admet que le caryosome est de la chromatine végétative qui disparaît lors des multiplications sexuées.

2. Microgamétogonie.

On peut distinguer plusieurs périodes lors de la formation des microgamètes :

a) L'accroissement du microgamétocyte.

b) La multiplication nucléaire et la formation des cytomères.

c) L'achèvement et la libération des microgamètes.

a) Accroissement du microgamétocyte.

Comme nous l'avons dit plus haut, les tout jeunes stades ne sont pas reconnaissables des stades correspondants du macrogamète. Pendant l'accroissement, on voit très souvent des gamètes à caryosome intensément colorable; la structure interne échappe donc, et il n'est pas possible de dire si au centre de la sphère existe un amas chromatique.

A la fin de l'accroissement, on reconnait le microgamétocyte. Semblable au macrogamète, il s'en distingue par l'allure du caryosome. Celui-ci est constitué simplement de deux couches chromatiques, l'une externe très colorable par l'hématoxyline de Heidenhain, l'autre interne, homogène, moins colorable, fig. 15; ces deux éléments ne sont pas très nettement limités l'un par rapport à l'autre, fig. 16. — Après coloration à l'hématoxyline de Delafield, on observe une colorabilité inverse. Il semble que la zone externe soit moins colorable, et au début elle n'est pas nettement limitée de la zone interne moins colorable.

L'évolution du caryosome et du noyau diffère de celle que nous avons observée dans le macrogamète. La sphère périphérique se contracte, décoiffe en quelque sorte la sphère interne, fig. 17, 18, et bientôt le caryosome se présente sous forme d'une sphère assez peu chromatique, avec quelques

grands alvéoles, à laquelle est accolée une calotte très chromatique, vacuolaire, représentant la sphère externe, FIG. 19.

L'un de ces éléments constituants persiste longtemps : c'est la partie interne du caryosome ou la sphère la plus homogène à quelques vacuoles; l'autre difflue dans le noyau. Dès lors le contenu nucléaire, clair jusqu'à présent, devient uniformément colorable par les colorants protoplasmiques (rouge Congo) et présente ce même aspect de très fin coagulum déjà observé pour le macrogamète, FIG. 19. Le microgamétocyte reste cependant facilement reconnaissable grâce à la présence d'un gros caryosome reliquat de la zone centrale, FIG. 21, 23, 27.

Les éléments chromatiques du noyau, qui jusqu'à présent étaient restés groupés à la périphérie, s'éparpillent dans le noyau, FIG. 20, et bientôt échappent plus ou moins à la vue, n'étant plus apparents que comme de petits filaments et de petits granules disséminés, FIG. 21, 22.

b) Multiplication nucléaire et formation des cytomères.

Quand l'accroissement est achevé, les divisions nucléaires s'annoncent par le fait que le noyau émigre vers la périphérie du parasite et entre en contact avec elle, FIG. 22; il y a même une légère invagination de la membrane du microgamétocyte à l'endroit où le noyau entre en contact avec elle, et en même temps la lumière entre le noyau et le protoplasme devient moins nette ou plutôt moins régulière, de nombreux prolongements nucléaires s'insinuant entre les mailles protoplasmiques, FIG. 20-22. La cavité nucléaire persiste cependant et nous n'observons pas la diffusion du caryoplasme et des éléments caryosomiens dans le protoplasme, ainsi que MOROFF (08) le décrit pour l'*Aggregata legeri*. Dans cette espèce, il observe que le fuseau de division plonge directement dans le protoplasme; il est vrai que le fait paraît être exceptionnel et qu'il ne se retrouve pas dans les autres espèces d'Aggrégates étudiées par cet auteur.

Le noyau ayant atteint la périphérie, ses éléments chromatiques se condensent plus ou moins, soit sous la forme de petits filaments assez grêles et de nombreux fragments granuleux, FIG. 21, soit en bandes épaisses supportant les granules chromatiques, FIG. 24.

La première division nucléaire est généralement du type multipolaire, FIG. 25, 26, mais nous ne pouvons affirmer que ce type soit constant,

FIG. 23. Le noyau s'étire irrégulièrement, chacun de ses pôles entrant en contact avec la paroi du parasite. Les éléments chromatiques peuvent se présenter différemment : ou bien ils sont éparpillés en petits éléments granuleux très nombreux, FIG. 23, ou bien ils sont disposés en quelques filaments tout chargés de granules, FIG. 25, 26. Il ne semble pas que ces deux aspects soient des stades différents d'une division évoluant suivant un type unique; il paraît plus probable, comme on le verra pour les divisions ultérieures, qu'il existe des variantes dans l'aspect des divisions. Le granule caryosomien peut être expulsé assez tôt dans le protoplasme, FIG. 25, ou bien il peut être départi à l'un des noyaux-filles, FIG. 26, 27.

Les noyaux-filles, après une période de repos qui parait être très courte, se divisent à nouveau, FIG. 28, et bientôt la division du microgamétocyte en cytomères a lieu. La segmentation du protoplasme, qui conduit à la formation d'un nombre restreint de loges, débute par l'apparition de fentes très étroites, que l'on devine plutôt qu'on ne les voit au milieu des mailles du protoplasme, FIG. 29. Les loges, d'abord polygonales, FIG. 30, acquièrent des contours plus nets et plus arrondis. Il semble que les cytomères soient d'abord uninucléés, chacun possédant un gros noyau au repos avec bandes chromatiques peu colorables mais bien distinctes, FIG. 30. Ce stade, très éphémère, est bientôt suivi de multiplications nucléaires à l'intérieur de chaque cytomère.

Les divisions nucléaires peuvent être d'aspects très variés et, fait curieux, les différents types se rencontrent dans un même macrogamétocyte. Les FIG. 31, 33, 35 et 37 ont été dessinées d'après les aspects rencontrés dans un seul microgamétocyte.

Premier type. Dans ce mode de caryocinèse, qui est très parfait, il y a une espèce de prophase; dans le noyau qui s'accole à la paroi du cytomère, on voit les éléments chromatiques filamenteux éparpillés se disposer assez régulièrement en bandes épaisses, plus ou moins achromatiques, qui supportent de très nombreux granules chromatiques, FIG. 31. A l'anaphase on voit que ces filaments, que l'on serait tenté d'appeler chromosomes, convergent au pôle vers un point central, FIG. 32; il ne nous fut pas possible cependant de découvrir un centriole. Les filaments sont peu nombreux; nous ne voulons pas affirmer que leur nombre soit constant, mais plusieurs fois nous en avons observé six à chaque pôle; il paraît même n'y en avoir que trois incurvés en anse. Ces filaments très longs montrent nettement la structure que nous avons décrite plus haut.

Tandis qu'à la télophase les éléments chromatiques se tassent aux pôles, certains filaments restent très longtemps unissants, FIG. 34.

Le deuxième type, dérivant du premier, est la division multipolaire, FIG. 37. Ce type est relativement rare dans les cytomères; dans l'aspect dessiné, on voit très nettement qu'en un des pôles, situé semble-t-il dans l'axe de division principale, existent, côte à côte, deux centres de convergence des filaments chromatiques; divergeant de là, les uns se dirigent au pôle opposé, les autres à des pôles secondaires.

Un troisième type de division, en apparence beaucoup moins parfait, consiste dans un simple étirement suivi d'étranglement du noyau, FIG. 35. Celui-ci contient cependant un réseau filamenteux chargé de petits granules chromatiques.

Dans de rares cas nous avons rencontré des aspects semblables à ceux de la FIG. 38. Toute la chromatine nucléaire est condensée au centre du noyau, dont la cavité est légèrement colorable par les colorants protoplasmiques. Nous ne pouvons déterminer la signification de cet aspect; peut-être est-ce une télophase, peut-être n'est-ce qu'un aspect anormal, altéré ou dégénéré.

Les divisions se succèdent rapidement, FIG. 39; les noyaux deviennent très nombreux dans chaque cytomère; parfois, FIG. 39, on retrouve dans le protoplasme de l'un d'eux le reliquat caryosomien du microgamétocyte primitif.

c) Achèvement et libération des microgamètes.

Les divisions nucléaires cessent; les noyaux sont tous disposés à la périphérie des cytomères, leurs contours se régularisent, ils deviennent à peu près sphériques, FIG. 40-42. D'abord on aperçoit encore des filaments entortillés formant un peloton très chromatique; plus tard les noyaux se condensent et, tout en diminuant de volume, deviennent plus intensément colorables.

La membrane du microgamétocyte primitif se déchire, les cytomères libres continuent leur évolution au voisinage l'un de l'autre, FIG. 42. La mise en liberté des microgamètes peut être précoce, FIG. 40; cependant elle ne se fait généralement que quand leur évolution est presque achevée et

qu'ils sont arrivés à maturité ; ils ont alors une forme ovoïde, acuminée à une extrémité, sont d'aspect homogène et intensément colorables, FIG. 13.

La formation des microgamètes par bipartitions successives du noyau est admise par la plupart des auteurs. Seul SIEDLECKI (98) avait cru qu'ils naissent par recondensation de la chromatine éparpillée dans le protoplasme. On a vu combien ces divisions nucléaires sont variées; il est indubitable cependant qu'elles se rattachent à un même type fondamental. Nous n'avons jamais observé de type aussi parfait que ceux dessinés par MOROFF (08) et présentant un fuseau achromatique et des centrosomes; cet auteur note d'ailleurs l'absence de ce type chez *Aggregata siedlecki*. De ce que nous n'ayons pas vu de centrosome, il ne résulte d'ailleurs pas qu'il n'existe pas de centres d'attraction; il nous paraît même que, sous forme figurée ou non, ils doivent exister. Cette conviction se base sur l'allure de certaines cinèses, dans lesquelles on voit les éléments chromatiques convergeant parfaitement vers un point, et elle se base aussi sur l'aspect des cinèses multiples. Celles-ci, en effet, sont très probablement du type bipolaire et elles sont dues à la succession rapide des cinèses, FIG. 37 [DOBELL (14*b*)], ou à la division précoce des centres d'attraction, FIG. 25, 26. Nous ne croyons pas à l'existence, au moins dans l'espèce qui nous intéresse, des divisions multiples réelles telles que MOROFF (08) les décrit pour *Aggregata jacmetti*, c'est-à-dire de celles qui montrent plusieurs centres d'attraction apparaissant simultanément.

3. Sporulation.

Dans l'exposé des phénomènes de sporulation il est bon de distinguer quatre périodes :

a) La fécondation.
b) La multiplication nucléaire.
c) L'isolement des sporoblastes.
d) La formation des sporozoïtes.

a) La fécondation.

Quand le macrogamète a achevé son accroissement et que le caryosome a complétement disparu, FIG. 14, le noyau, resté jusqu'à présent au

centre du parasite, émigre vers la périphérie; ses contours, comme nous l'avons déjà observé pour le microgamétocyte, sont irréguliers, FIG. **44**, et ce noyau ne contient qu'une sphère creuse, chromatique, formée de tous les filaments nucléaires condensés. Le noyau ne reste pas sphérique, mais s'allonge considérablement, devient fusiforme, accolé à la membrane par une de ses extrémités aiguës; il traverse le macrogamète presque de part en part, FIG. **46**, **47**.

Des aspects comme ceux de la FIG. **45** restent énigmatiques; malgré la présence d'une sphérule caryosomienne, nous croyons devoir les considérer comme appartenant à un macrogamète, à cause de l'aspect des éléments chromatiques qui, en peloton de fins filaments entremêlés de quelques granules, sont excessivement chromatophiles.

Lorsque le noyau a atteint la périphérie par une de ses extrémités, les éléments chromatiques qui, d'abord disposés en sphère creuse, se sont plus ou moins éparpillés, se portent tout près de la membrane. Cette migration s'accompagne d'une espèce d'étirement, les filaments étant en quelque sorte traînés dans le noyau, FIG. **47**. On voit de longs filaments chromatiques tantôt presque rectilignes, tantôt brusquement coudés en angle, qui sortent du peloton chromatique et traversent le noyau.

Nous croyons, contrairement à l'opinion de DOBELL (14*b*), que cet aspect précède la pénétration du microgamète dans le macrogamète, car il s'observe parfois alors que le noyau n'a pas encore ou a à peine atteint la périphérie du parasite.

Le noyau fusiforme vient en contact en un point avec la membrane, et ce contact devient de plus en plus étendu, jusqu'à ce que le noyau s'accole largement contre elle et redevienne sphérique; il contient le peloton chromatique finement filamentaire, et nous avons observé une fois, FIG. **48**, un granule chromatique tout contre la membrane; peut-être est-ce le microgamète fécondant ou plutôt un reliquat de ce microgamète. Il ne nous est d'ailleurs pas possible d'établir avec précision le moment de la pénétration du microgamète, n'ayant pas observé le phénomène; tout ce que nous pouvons dire, c'est qu'elle doit avoir lieu entre le moment où le noyau entre en contact avec la périphérie et la première mitose; les aspects que le *Merocystis* offre à ce stade sont trop semblables à ceux que l'on rencontre pendant la fécondation des Coccidies pour qu'il puisse exister le moindre doute à cet égard.

Nous avons rencontré une seule fois dans le noyau à ce stade un aspect

très particulier, mais d'interprétation douteuse. Le noyau du macrogamète, FIG. 46, allongé et presque en contact avec la périphérie, est absolument libre de tout élément chromatique figuré; mais il possède tout près de la membrane un petit noyau très nettement limité et contenant, en même temps que de fins filaments peu chromatiques, des granules également peu colorables. Cet aspect rappelle étrangement celui que LÉGER et DUBOSCQ (08) ont observé dans la schizogonie des Aggrégates, immédiatement avant les premières divisions; ces auteurs l'interprétent comme noyau de reconstitution, c'est-à-dire que dans le noyau accru il y a délimitation d'un petit noyau qui contient le spirème chromatique et qui seul se divise, tandis que la plus grande partie du noyau ancien disparait. Il fut impossible d'établir avec certitude l'homologie du stade qui nous intéresse avec ceux décrits par LÉGER et DUBOSCQ, à cause de la rareté des aspects observés et à cause du manque de stades de transition.

b) *Multiplication nucléaire.*

Immédiatement après la fécondation, le noyau s'applique largement contre la membrane du zygote. Le peloton de filaments chromatiques se détend et les filaments qui s'en échappent sont épais, très chromatiques, formés de granules agglomérés autour d'un substratum central, FIG. 49. Tout le reste du noyau est de structure uniforme, très finement granuleux, se colorant par les colorants protoplasmiques.

La première division sporogoniale est généralement multipolaire, FIG. 50, mais nettement différente de celle que nous avons décrite dans la microgamétogonie, FIG. 25, 26. Les éléments chromatiques ne sont pas éparpillés dans le noyau, mais condensés; ils sont très intensément colorables et paraissent trapus ; ajoutons qu'il n'y a pas de reliquat caryosomien. Les divisions ultérieures des noyaux du sporonte sont reconnaissables des divisions nucléaires de microgamétocyte par ces mêmes caractères : la colorabilité très forte des éléments chromatiques et leur condensation au centre du noyau.

Le type de ces divisions parait être moins parfait que celui que nous avons vu plus haut : la masse chromatique, formée de filaments entortillés et entremêlés de granules, s'étire, s'étrangle et se divise, FIG. 50; parfois la masse chromatique en division apparait formée de granules et de bâtonnets

plus ou moins orientés, FIG. 51. Nous n'avons pas observé de centriole ni de centres d'attraction ni de fuseau achromatique.

Un grand nombre de divisions du même type se succèdent, et ce jusqu'à ce que toute la périphérie du sporonte soit bordée de noyaux, FIG. 52-55.

c) L'isolement des sporoblastes.

Les noyaux se trouvent régulièrement disposés à la périphérie du sporonte, FIG. 55. L'envahissement du centre doit être assez brusque. Nous n'avons, en effet, observé que rarement des aspects indiquant le début du phénomène, FIG. 56; les stades ultérieurs qu'il nous a été donné de voir, FIG. 57, montrent l'envahissement déjà très avancé; quelques noyaux se trouvent encore disposés régulièrement près de la membrane.

Quand l'envahissement est complet, le protoplasme se segmente. La structure finement alvéolaire qu'il a conservée depuis le début de l'évolution se transforme peu à peu. Certaines travées acquièrent une importance plus grande par leur longueur et leur netteté; le protoplasme se cloisonne en à peu près autant de loges qu'il y a de noyaux, FIG. 58. Les noyaux sont le plus souvent disposés dans un angle de ces loges polyédriques et paraissent être au repos. Peu à peu les contours des loges se dessinent plus nettement, les angles s'arrondissent et les sporoblastes s'individualisent sous la forme de petites sphères tassées les unes contre les autres et contenues à l'intérieur du sporonte au nombre de plusieurs centaines, FIG. 58.

Il arrive aussi que la réduction du sporonte en sporoblastes se fait progressivement; des noyaux s'isolent dans une petite plage du protoplasme, tandis que d'autres restent pendant quelque temps encore groupés à plusieurs dans une masse protoplasmique commune, FIG. 59.

Quand on examine les sporoblastes isolément, on observe que ce sont des éléments de 15 à 20 μ de diamètre. Le noyau semble sortir du repos, il est de structure spongieuse, FIG. 60, 61; parfois on en observe en division, FIG. 63. Sur les préparations fixées au sublimé on voit que le protoplasme forme au voisinage du noyau une plage plus dense, homogène, FIG. 61, tandis qu'ailleurs il est largement vacuolisé. Dans les objets fixés au BOUIN ou au BENDA, on observe dans le protoplasme une sphérule bien délimitée, FIG. 60, colorable par les colorants protoplasmiques; elle fixe

également l'hématoxyline qui disparait par une différenciation poussée assez loin; souvent alors le centre reste coloré, tandis que la périphérie est différenciée, FIG. 60, 62. Nous n'avons pas pu établir l'origine de cette curieuse formation; elle est complétement absente quand les noyaux sont encore régulièrement disposés à la périphérie du sporocyste, FIG. 55; elle apparaît lorsque la fragmentation commence, FIG. 58, 59. Nous croyons, sans oser l'affirmer, que chaque sporoblaste ne possède primitivement qu'une seule de ces sphérules et qu'elles se divisent ultérieurement, FIG. 62. MOROFF (08) les a observées dans plusieurs Aggrégates de la Seiche; elles se formeraient par agglomération de granules chromatiques; leur signification est douteuse.

d) Formation des sporozoïtes.

La formation des sporozoïtes a lieu soit à l'intérieur de la membrane du sporonte, soit après éclatement de celle-ci et dissémination des sporoblastes.

Le noyau unique s'allonge, s'étire, s'étrangle et se divise en deux noyaux-filles, FIG. 61-65; il paraît garder sa structure spongieuse durant tout ce processus. Les noyaux-filles restent au nombre de deux dans l'immense majorité des cas; exceptionnellement ils se divisent une seconde fois; la spore contiendra alors quatre sporozoïtes.

Aux dépens des deux noyaux se forment deux éléments trapus, recourbés en demi-cercle, très colorables, de structure spongieuse, FIG. 66-69. A côté d'eux persistent une masse plus ou moins condensée de protoplasme, les deux sphères protoplasmiques homogènes et des granules réfringents; la membrane de la spore est plissée, épaisse et réfringente. Nous trouvons-nous en présence du sporozoïte mûr? et quelle est la part que prend le protoplasme dans sa formation? Nous ne pouvons actuellement répondre à ces questions, ce qui exigerait l'examen de matériel frais.

Nous n'avons vu le sporozoïte en liberté qu'exceptionnellement et dans des conditions telles qu'une rupture artificielle de la spore était évidente. Il faut admettre que la mise en liberté a lieu en dehors du rein de buccin.

B. DISCUSSION DES OBSERVATIONS.

1. Le cycle.

D'après la description que nous venons de donner, le cycle évolutif du *Merocystis kathæ* peut se résumer comme suit :

La schizogonie est inconnue; elle se passe probablement dans un hôte intermédiaire. Les mérozoïtes, parvenus dans le tissu de la glande excrétrice du buccin, se transforment, les uns en macrogamètes, les autres en microgamétocytes.

Les macrogamètes subissent un énorme accroissement et sont caractérisés par un caryosome à forme complexe; sa partie centrale se répand la première dans le caryoplasme, puis la partie périphérique se disperse également; le plus souvent, le caryosome a complétement disparu à la fin de l'accroissement.

Le microgamétocyte s'accroît aussi beaucoup; son caryosome est de structure plus simple; la zone centrale se dévagine de la zone corticale et cette dernière se disperse dans le cytoplasme; à la fin de l'accroissement, la zone centrale persiste, au moins en grande partie, dans le noyau. Les premières divisions du microgamétocyte sont du type multipolaire ; après production d'un nombre restreint de noyaux, il y a formation de cytomères par cloisonnement du protoplasme; puis, par cinèses de types variés, il se forme dans chaque cytomère un grand nombre de noyaux, aux dépens de chacun desquels naîtra un microgamète.

La fécondation a lieu par pénétration d'un microgamète dans le macrogamète, et cette fécondation est bientôt suivie de multiplication du noyau du zygote; les noyaux-filles, très nombreux, se disposent régulièrement à la périphérie. Chaque noyau s'isole alors avec une petite portion de protoplasme et forme un sporoblaste; à l'intérieur de celui-ci, par division nucléaire, se forment deux sporozoïtes; la spore est formée et prête à être expulsée.

Cette évolution est notablement différente de celle qui a été décrite par Dakin (11). D'après cet auteur, les microgamètes se forment à la périphérie du parasite, FIG. **53-56**; le zygote se divise en kystes secondaires, FIG. **30**, **39**, qui ultérieurement vont donner un amas de spores, FIG. **58**, dans lesquelles existe un seul sporozoïte, FIG. **60-62**. Il nous paraît évident

que DAKIN, tout en observant fort bien des stades isolés, a fait une confusion essentielle en ce qui concerne leur sériation. Il a considéré comme appartenant au début de la sporogonie les stades de microgamétogonie, et inversement, comme microgamétogonie les stades de formation des spores. Il nous parait impossible de soutenir sa façon de voir; en effet :

1° On voit nettement les microgamètes mûrs groupés autour de petits amas protoplasmiques qui correspondent aux cytomères provenus de la fragmentation de la grande masse protoplasmique primitive (microgamétocyte), FIG. 40-43.

2° On voit nettement les sporoblastes s'individualiser dans la masse protoplasmique unique (sporonte), FIG. 56-58. Il peut y avoir une fragmentation partielle du sporonte, ce qui amène la formation exceptionnelle de quelques amas plurinucléés, FIG. 59.

3° Quant à la formation de deux sporozoïtes dans chaque spore, elle est évidente, FIG. 63-69, et il est malaisé de comprendre comment elle a échappé à DAKIN.

Le cycle, tel que nous le concevons, concorde assez bien avec celui que MOROFF admet pour les *Aggregata*; mais il (06*a*, 06*b*) admet que la fécondation n'a lieu qu'après la formation de sporoblastes, qu'il appelle les macrogamètes. Cet auteur, dans son travail d'ensemble (08), est d'ailleurs moins affirmatif sur ce point.

Il nous parait évident que la fécondation a lieu à la fin de l'accroissement du macrogamète, et cette façon de voir concorde avec celle de SIEDLECKI (08) et de DOBELL (14*b*). Cette façon de voir se base sur l'impossibilité qu'il y a à ce que les centaines de sporoblastes soient fécondés isolément, étant donné qu'ils sont renfermés dans une membrane homogène; et elle se base sur la concordance parfaite des aspects que nous considérons comme stades de fécondation avec les aspects correspondants si souvent décrits chez les Coccidies (DEBAISIEUX, 10, 11); d'ailleurs, sans que nous ayons vu le moment exact de la pénétration du microgamète dans le macrogamète, la succession des stades que nous avons observés est amplement suffisante pour que nous puissions affirmer qu'ils représentent des processus de fécondation.

2. Classification.

Se basant sur les caractères établis par lui, Dakin range ce parasite dans le groupe des *Polysporocystidæ; Merocystis nov. g.*

Si l'on veut situer *Merocystis* dans la classification des Coccidies donnée par Léger (11), il faudrait créer une famille nouvelle à ranger parmi les *Eimeridæ polyzoïca*, entre les *Barouxidæ* et les *Caryotrophidæ*. Cette famille serait caractérisée par le fait que les nombreuses spores sont dizoïques, fait qui a échappé à l'observation de Dakin.

Mais une interprétation toute différente s'impose; il faut considérer le *Merocystis kathæ* comme une Aggrégate, et le nom lui-même devra probablement être changé par celui qui fera la revision complète des Aggrégates.

Comme caractères d'Aggrégates le *Merocystis* présente :

1° Absence de schizogonie à côté de la sporogonie, ce qui entraîne la nécessité d'un habitat différent pour la schizogonie.

2° Évolution caractéristique du caryosome nettement divisé en zones concentriques. Il est vrai que ce fait a été observé chez le *Caryotropha mesnili* (Siedlecki, 05, 07), mais la systématique de ce genre n'est pas encore définitivement établie, et, nous basant sur un travail actuellement en cours au laboratoire de Louvain, nous croyons que cette espèce devra également être rapprochée, si pas assimilée, aux Aggrégates.

3° Premières cinèses microgamétogoniques et sporogoniques généralement multiples, et cinèses de type très parfait.

4° Remarquons, enfin, les dimensions considérables du parasite, et la concordance parfaite entre beaucoup d'aspects du *Merocystis* et ceux des Aggrégates.

Deux caractères distinguent nettement le *Merocystis* des Aggrégates connues jusqu'à présent :

1° La dimension restreinte des microgamètes.

2° Les spores à deux sporozoïtes. Les espèces décrites en possèdent trois, quatre ou davantage, jusqu'à 24. Rappelons cependant que *Merocystis* montre parfois des spores anormales à quatre sporozoïtes.

Reste la question de savoir où il convient de ranger les Aggrégates elles-mêmes.

Schneider (83), Labbé (96), Siedlecki (98), Laveran (98) et beaucoup d'auteurs antérieurs les ont considérées comme des Coccidies; Moroff

(06, 08), Léger et Duboscq (06-07-08) les envisagent comme des Grégarines. Ils appuient leur façon de voir sur le fait qu'il existe une copula chez les Aggrégates, qu'elles ont des sporocystes dérivant directement de la copula, qu'elles ont des centrosomes et des fuseaux, et qu'elles possèdent de volumineux microgamètes.

Une note préliminaire de Dobell (14*b*) nous annonce qu'il a observé, comme Siedlecki (08), que les Aggrégates se fécondent par hétérogamie, et que l'ookyste donne plusieurs sporocystes; il rapproche donc les Aggrégates des Coccidies.

Cette façon de voir est confirmée par nos observations; nous trouvons également l'existence d'une hétérogamie très accentuée, nous voyons de plus la formation de nombreux sporocystes aux dépens du zygote, et aussi que dans le *Merocystis* les microgamètes sont petits et que les fuseaux et centrosomes font défaut, ce qui d'ailleurs était observé déjà pour d'autres espèces (Moroff, 08).

Nous n'hésitons donc pas à nous rallier à l'opinion de Dobell et à rattacher les Aggrégates aux Coccidies.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1. Le *Merocystis kathæ*, parasite de l'organe rénal de *Buccinum undatum*, est une Aggrégate; les Aggrégates constituent une famille de Coccidies.

2. Le macrogamète et le microgamétocyte subissent l'un et l'autre un accroissement considérable; ils sont caractérisés par leur caryosome, formé de deux substances différentes.

3. Le caryosome du macrogamète, très complexe, disparaît complétement à la fin de l'accroissement, la zone centrale se dispersant la première dans le cytoplasme.

4. Le caryosome du microgamétocyte est plus simple et la zone corticale difflue d'abord dans le cytoplasme, tandis que la zone centrale laisse un gros reliquat chromatique.

5. Les microgamètes se forment dans des cytomères nés du microgamétocyte.

6. La fécondation a lieu par la pénétration d'un microgamète dans le macrogamète, à la fin de l'accroissement.

7. Le zygote donne naissance à de nombreux sporoblastes; les spores possèdent deux sporozoïtes.

8. Les divisions nucléaires sont de type très élevé, nettement différentes dans le sporonte et dans le microgamétocyte.

BIBLIOGRAPHIE.

1911 *Dakin* : Notes on a new coccidian (*Merocystis kathæ n. gen. n. spe.*); Arch. f. Protist., t. 23, p. 145.

1910 *Debaisieux* : Recherches sur les Coccidies. I. *Klossia helicina*; La Cellule, t. 27, p. 89-111.

1911 » : Id. II. *Adelea ovata*. III. *Coccidium lacazei*; La Cellule, t. 27, p. 257-287.

1914*a* *Dobell* : Cytological studies on three species of amoeba; Arch. f. Protist., t. 33, p. 139-189.

1914*b* » : Le cycle évolutif de l'*Aggregata*; Bull. Instit. Océanograph. Monaco, nº 283, p. 1-7.

1903 *Jacquemet* : Sur la systématique des Coccidies des Céphalopodes; Arch. f. Protist., t. 2.

1896 *Labbé* : Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies; Arch. Zool. exp. et génér., t. 4, 3e série.

1898 *Laveran* : Sur les modes de reproduction du *Klossia helicina*; C. R. Soc. Biol. Paris, vol. 10, p. 1083.

1901 *Léger* : Sur une nouvelle grégarine des pinnothères des Moules; C. R. Ac. Sc., 1901.

1911 » : *Caryospora simplex*, Coccidie monosporée et la classification des Coccidies; Arch. f. Protist., t. 22, p. 71-88.

1906 *Léger* et *Duboscq* : Sur l'évolution des grégarines gymnosporées des Crustacés; C. R. Ac. Sc., t. 142.

1906 » : L'évolution d'une *Aggregata* de la seiche chez le *Portunus depurator*; C. R. Soc. Biolog. Paris, 1906.

1907 » : L'évolution nucléaire du schizonte de l'*Aggregata eberthi*; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 144.

1907*b* » : L'évolution des *Frenzelina*, grégarines intestinales des Crustacés décapodes; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 144.

1908 » : L'évolution schizogonique de l'*Aggregata eberthi*; Arch. f. Protist., t. 12.

1892 *Mingazini* : Ciclo evoluto della *Benedenia octopiana;* Atti. R. Acad. Lincei, ser. V, t. 1, p. 218-222.

1906 *Moroff* : Sur les prétendues Coccidies des Céphalopodes; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 142.

1906 *b* » : Bemerkungen über den Kern der *Aggregata;* Zool. Anz., t. 31.

1908 » : Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten; Arch. f. Protist., t. 11.

1883 *Schneider* : Nouvelles observations sur la sporulation de *Klossia octopiana;* Arch. Zool. exp. et gén., série 2, vol. 1.

1898 *Siedlecki* : Études cytologiques et cycle évolutif de la Coccidie de la seiche; Ann. Inst. Pasteur, vol. 12.

1905 » : Ueber die Bedeutung des Caryosomes; Bull. Acad. Sc Cracovie (Mathémat. et Sc. naturelles).

1907 » : Structur und Lebensgeschichte von *Caryotropha mesnili;* Bull. Acad. Sc. Cracovie (Mathémat. et Sc. naturelles).

1854 *Van Beneden* : Sac à Psorospermies; Mém. Ac. R. Belgique, vol. 26.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Les observations ont été faites à l'aide de l'objectif apochromatique à immersion 2 mm. de Koritska *et des oculaires de* Zeiss.

Le grossissement linéaire approximatif est indiqué pour chaque dessin.

La projection à la chambre claire a été faite un peu en dessous de la platine du microscope.

PLANCHE I.

Gamétogonie.

FIG. **1.** Jeune gamonte indifférencié à noyau contenant un gros caryosome homogène et des corpuscules chromatiques périphériques. Des cellules de l'hôte sont intimement accolées au parasite. Fixat. Bouin. × 1000.

FIG. **2.** Jeune gamonte indifférencié accru. Fixat. Bouin. × 1000.

FIG. **3.** Gamonte indifférencié dont le noyau présente la particularité de contenir deux corps caryosomiens. Fixat. Bouin. × 1000.

Macrogamétogonie.

FIG. **4.** Macrogamète jeune. Le noyau montre tous les corpuscules chromatiques situés près de la membrane, et un caryosome à zone périphérique chromatique et à partie centrale claire renfermant un corps chromatique Fixat. Bouin. × 1000.

FIG. **5.** Macrogamète plus avancé. Le caryosome possède une zone très chromatique à quelque distance de la périphérie et un amas chromatique dans la partie centrale plus claire. Fixat. Bouin. × 1000.

FIG. **6.** Noyau de macrogamète montrant les mêmes particularités et de plus l'orifice en entonnoir existant dans la sphère très chromatique du caryosome. Fixat. sublimé-alcool. × 385.

FIG. **7**. Noyau de macrogamète. Le caryosome montre un corpuscule central lui-même formé de différentes assises de chromaticité différente; la zone claire est traversée de fines travées radiairement disposées. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **8**. Noyau de macrogamète. La substance peu chromatique du caryosome semble diffluer dans le noyau. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **9**. Noyau de macrogamète. La cavité nucléaire est uniformément remplie d'une substance peu colorable dans laquelle plongent les corpuscules chromatiques. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **10**. Noyau de macrogamète. Les corpuscules chromatiques s'éparpillent dans tout le noyau; le caryosome est en dégénérescence et perd sa chromaticité. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **11**. Noyau de macrogamète. Le caryosome est réduit à une sphère creuse à paroi mince. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **12**. Id. Les corpuscules chromatiques se groupent autour du reliquat caryosomien. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **13**. Noyau de macrogamète. Le caryosome a presque complétement disparu. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **14**. Noyau de macrogamète. Le caryosome a disparu; les corpuscules chromatiques sont groupés en sphère autour de l'emplacement du caryosome; la cavité est uniformément remplie d'une substance peu colorable; les contours du noyau sont peu nets; il envoie des prolongements entre les mailles protoplasmiques. Fixat. BOUIN. × 385.

Microgamétogonie.

FIG. **15**. Noyau de microgamétocyte. Le caryosome est formé d'une partie centrale et d'une zone périphérique alvéolaire. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **16**. Noyau de microgamétocyte. La portion périphérique du caryosome se ramasse en un pôle du caryosome. Fixat. sublimé-alcool. × 385.

FIG. **17**. Noyau de microgamétocyte. La portion périphérique du caryosome, complétement ramassée en un pôle, coiffe en calotte la partie centrale, qui se libère. Fixat. BENDA. × 385.

FIG. **18**. Noyau de microgamétocyte. Les deux éléments constituants du caryosome libérés; la partie périphérique dégénère. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **19**. Id. en un stade plus avancé. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **20**. Noyau de microgamétocyte. La partie centrale du caryosome seule persiste; les corpuscules chromatiques bien formés sont éparpillés dans le noyau, ne laissant libre qu'une petite zone autour du caryosome. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **21.** Le noyau du microgamétocyte progresse vers la périphérie du parasite; tout le contenu nucléaire uniformément rempli de corpuscules chromatiques. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

FIG. **22.** Le noyau du microgamétocyte largement en contact avec la membrane du parasite; les corpuscules chromatiques en fins granules et bâtonnets se ramassent. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

PLANCHE II.

FIG. **23.** Première division. Elle est du type bipolaire; le noyau est largement en contact avec la membrane en deux points; les éléments chromatiques sont éparpillés en fins granules et bâtonnets; le reliquat caryosomien persiste sous la forme d'une sphérule peu chromatique. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

FIG. **24.** Le noyau du microgamétocyte largement en contact avec la membrane; les éléments chromatiques sont condensés sur quelques épais filaments; le reliquat caryosomien est présent. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

FIG. **25.** Première division. Elle est du type multipolaire; le noyau est largement en contact avec la membrane en au moins quatre points; les éléments chromatiques sont éparpillés en bâtonnets disposés plus ou moins en filaments; le reliquat caryosomien est expulsé dans le protoplasme. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

FIG. **26.** Première division du type multipolaire. Les éléments chromatiques disposés en filaments granuleux; le reliquat caryosomien persiste dans le noyau. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

FIG. **27.** Microgamétocyte à plusieurs noyaux. Le reliquat caryosomien persiste dans un des noyaux. Fixat. sublimé-alcool. $\times$ 500.

FIG. **28.** Microgamétocyte à plusieurs noyaux en division. Fixat. sublimé-alcool. $\times$ 500.

FIG. **29.** Microgamétocyte à plusieurs noyaux. La formation des cytomères est ébauchée par le clivage du protoplasme. Fixat. sublimé-alcool. $\times$ 500.

FIG. **30.** Microgamétocyte divisé en plusieurs cytomères. Les noyaux, un seul par cytomère, sont au repos. Fixat. Bouin. $\times$ 385.

FIG. **31.** Division nucléaire dans les cytomères. Stade de prophase. Fixat. Bouin. $\times$ 1000.

FIG. **32.** Id. Stade d'anaphase; centres d'attraction polaire évidents. Fixat. Bouin. $\times$ 1000.

FIG. **33.** Id. Trois anses chromatiques en un pôle. Fixat. Bouin. $\times$ 1000.

FIG. **34.** Id. Stade de télophase; deux filaments chromatiques unissants persistent. Fixat. Bouin. $\times$ 1000.

FIG. **35**. Division nucléaire dans le cytomère. Type plus simple. Fixat. BOUIN. × 1000.

FIG. **36**. Id. Stade de télophase. Fixat. BOUIN. × 1000.

FIG. **37**. Id. Type multipolaire. Fixat. BOUIN. × 1000.

FIG. **38**. Cytomères à noyau de type énigmatique; repos ou dégénérescence. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **39**. Microgamétocyte divisé en cytomères et montrant de très nombreuses divisions nucléaires. Le reliquat caryosomien persiste dans le protoplasme de l'un des cytomères (×). Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **40**. Cytomères libérés. Les noyaux se condensent; certains s'isolent complétement (×). Fixat. sublimé-alcool. × 500.

FIG. **41**. Les noyaux se condensent dans les cytomères; quelques-uns s'isolent. Fixat. sublimé-alcool. × 500.

FIG. **42**. Idem.

FIG. **43**. Microgamètes libres. Fixat. sublimé-alcool. × 500.

PLANCHE III.

Sporulation.

FIG. **44**. Microgamète dont le noyau se porte vers la périphérie du parasite en s'allongeant fortement. Éléments chromatiques disposés en sphère, à comparer avec l'aspect de la FIG. **14**, auquel cet aspect fait suite. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **45**. Noyau probablement de macrogamète, à aspect énigmatique. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **46**. Noyau de macrogamète à la période de fécondation. Présente près de la paroi une formation d'interprétation douteuse. Fixat. sublimé-alcool. × 385.

FIG. **47**. Noyau de macrogamète à la période de fécondation. Les éléments chromatiques disposés en filaments minces, rectilignes, à coudures brusques. Fixat. BOUIN. × 500.

FIG. **48**. Le noyau [probablement après la pénétration du microgamète (×)] reprend sa forme sphérique. Les éléments chromatiques se condensent fortement en un peloton. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **49**. Préparation à la première division du zygote. Les éléments chromatiques, très fortement colorables, sont ramassés en quelques filaments trapus, très granuleux. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **50**. Première division nucléaire dans le sporonte; type multipolaire. Les éléments chromatiques, très colorables, sont condensés en quelques filaments épais, et n'occupent qu'une faible partie de la cavité nucléaire. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **51**. Divisions bipolaires dans le sporonte. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **52**. Idem.

FIG. **53**. Noyaux au repos. Éléments chromatiques fortement ramassés. Fixat. BOUIN. × 385.

FIG. **54**. Divisions ultérieures. Fixat. sublimé-alcool × 660.

FIG. **55**. Nombreux noyaux dans le sporonte. Ils sont tous situés à la périphérie, contre la membrane; le protoplasme ne montre aucune tendance à la segmentation. Fixat. sublimé-alcool. × 500.

FIG. **56**. Les noyaux du sporonte ne se divisent plus; ils commencent à envahir les portions centrales du parasite. Fixat. sublimé-alcool.

FIG. **57**. Tout le protoplasme est envahi par des noyaux; quelques-uns sont encore groupés contre la paroi du sporonte. Fixat. BENDA.

FIG. **58**. Les sporoblastes se forment par clivage rapide du protoplasme; une membrane limite chaque portion uninucléée du protoplasme; dans chaque sporoblaste apparaît une zone protoplasmique homogène, peu chromatique. Fixat. sublimé-alcool.

FIG. **59**. Cas rare où une portion isolée du protoplasme du sporonte contient plusieurs noyaux et plusieurs plages peu chromatiques. Fixat. BOUIN. × 1500.

FIG. **60**. Sporoblaste montrant le noyau unique et la plage peu chromatique imparfaitement différenciée, le centre restant très coloré. Fixat. BOUIN. × 1500.

FIG. **61**. Sporoblaste à noyau unique et plage peu chromatique. Fixat. sublimé-alcool. × 1500.

FIG. **62**. Sporoblaste à noyau unique et deux plages peu chromatiques Fixat. BOUIN. × 1500.

FIG. **63**. Sporoblaste avec noyau en division. Fixat. sublimé-alcool. × 1500.

FIG. **64**. Sporoblaste à deux noyaux. Fixat. BOUIN. × 1500.

FIG. **65**. Idem. Fixat. sublimé-alcool. × 1500.

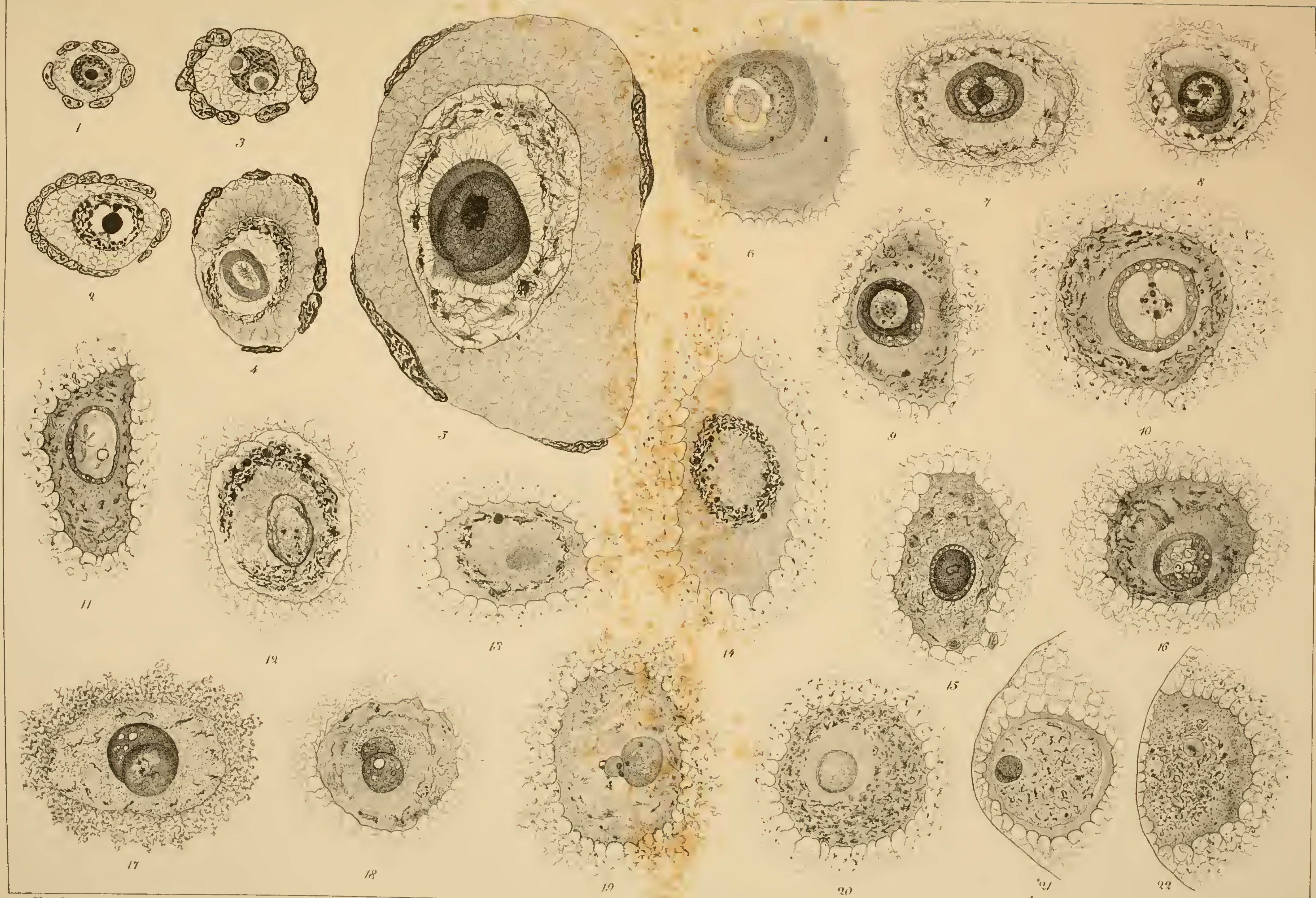
FIG. **66**. Deux sporozoïtes naissent aux dépens de deux noyaux du sporoblaste. Fixat. sublimé-alcool. × 1500.

FIG. **67**. Spores avec deux sporozoïtes et deux plages peu chromatiques dans le reliquat protoplasmique. Fixat. sublimé-alcool. × 1500.

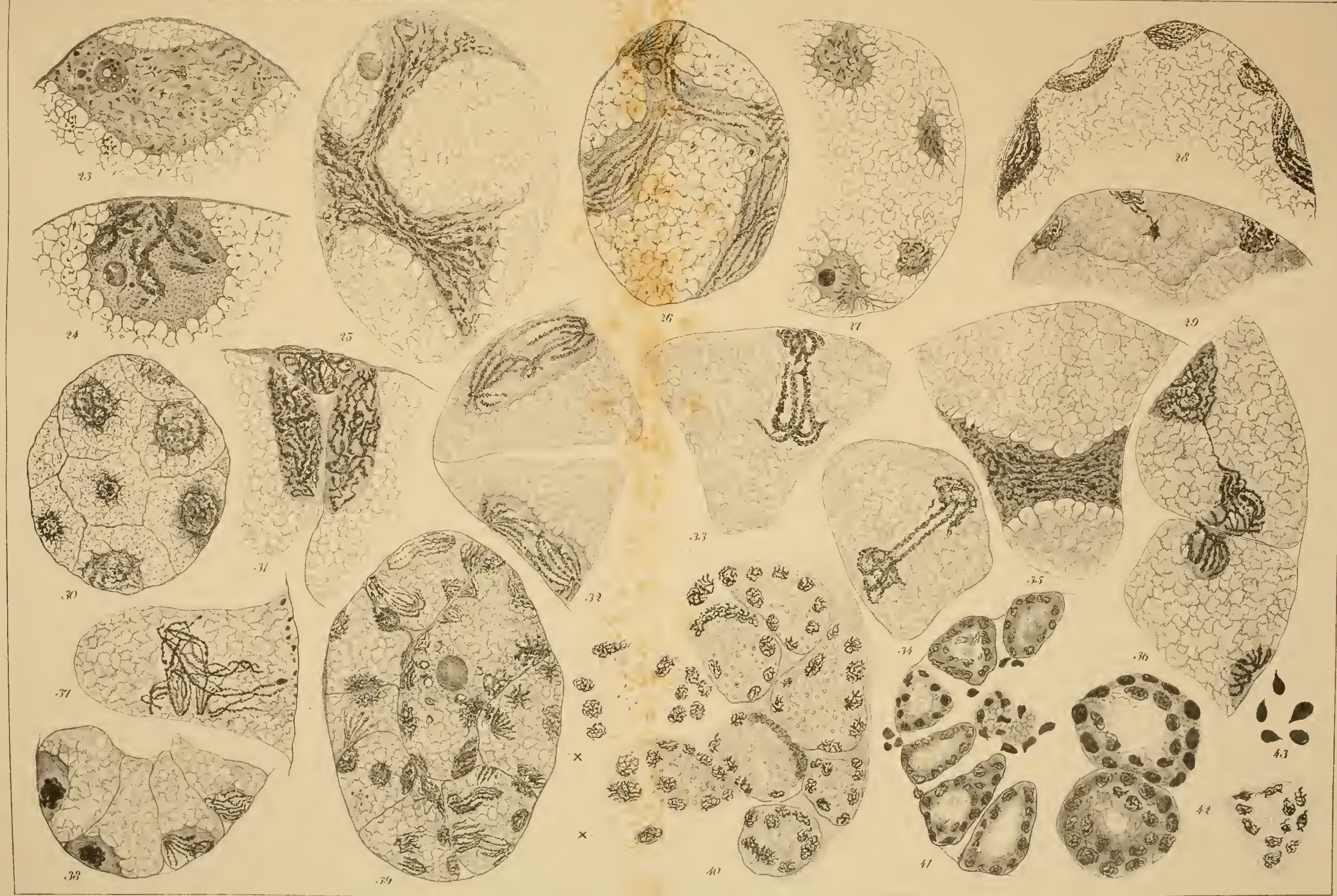
FIG. **68**. Id. Fixat. BOUIN. × 1500.

FIG. **69**. Id. Fixat. BOUIN. × 1500.

Planche I.



C. Foulon à l nat. del. Lith. H. Jacob S. Gilles-Briy. F. Biessmans Sculp.



C. Foulon ad nat. del.   Lith. H. Jacot St Gilles Brux.   F. Biesemans Sculp.

Planche III.


44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69

Études sur les Microsporidies

II. Glugea danilewskyi L. Pfr.
III. Glugea mülleri L. Pfr.

PAR

Paul DEBAISIEUX,

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ.

INSTITUT DE ZOOLOGIE, LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 1 juin 1915.)

Études sur les Microsporidies

MATÉRIEL.

Il y a quelques mois nous avons décrit l'*Eimeria cystis-felleæ*, coccidie parasite de la vésicule biliaire de *Tropidonotus natrix* (14). Plusieurs des animaux sacrifiés pour l'étude de ces parasites ont montré l'existence de petits kystes à microsporidies localisés dans les muscles.

L'étude de ces microsporidies était presque achevée, quand elle se trouva arrêtée par l'incendie de la ville de Louvain, dans lequel toutes nos préparations furent anéanties. Les pièces fixées ayant heureusement échappé à la destruction, nous avons repris l'étude. Des difficultés de technique et la petitesse de l'objet ont rendu le travail assez malaisé; il fut d'autre part facilité par la comparaison avec un parasite d'espèce très voisine.

Le hasard nous fit examiner des kystes musculaires de *Gammarus locusta* L.; nous y trouvâmes également des microsporidies. Des préparations microscopiques révélèrent la très grande ressemblance des deux infections tant au point de vue de la réaction de l'hôte qu'au point de vue de la structure et du cycle des parasites. Beaucoup d'observations faites sur l'une des espèces furent confirmées par l'étude de l'autre; des points obscurs dans l'évolution de l'une devinrent plus clairs par l'étude de l'autre. Des points douteux subsistent cependant encore.

MÉTHODES.

Les deux espèces de microsporidies ont été étudiées par les mêmes méthodes.

Les frottis suivis de divers modes de fixation ont donné des résultats fort peu satisfaisants. Les coupes ont constitué le procédé d'étude le plus généralement employé; les résultats sont satisfaisants à condition de faire des coupes très minces; leur épaisseur ne peut pas dépasser 2 μ ou 2,5 μ. Pour obtenir des coupes parfaites de cette minceur, il est nécessaire d'isoler le plus possible les kystes des tissus voisins et, dans le *Gammarus*, des productions chitineuses.

Les fixateurs donnent des résultats assez différents suivant leur pouvoir de pénétration. La tumeur est formée d'un ensemble d'alvéoles clos à membrane peu perméable; les fixateurs à l'acide acétique sont dès lors les plus favorables. Les solutions de Flemming, de Zenker et surtout de Bouin (aqueux ou alcoolique suivant Brazil, 05-06) ont donné de bons résultats. Le sublimé-alcool, plus énergique, et la solution de Benda, quoique moins bons, ont été souvent employés, afin de permettre l'application des colorants incompatibles avec les réactions acides. D'une façon générale, les aspects que montrent les préparations varient assez bien suivant le fixateur employé; nous dirions volontiers que c'est un avantage, car leur étude comparative conduit à écarter les accidents de préparation et à ne retenir que les aspects essentiels.

La meilleure coloration est obtenue par l'hématoxyline de Heidenhain. L'éosine-azur de Giemsa (voie humide) est précieuse comme colorant différentiel, surtout dans l'étude des spores; la safranine (procédé de Babès) donne de bons résultats pour la mise en évidence du filament spiralé dans la capsule polaire.

La coloration n'est jamais tout à fait satisfaisante; il semble, surtout pour le parasite du *Gammarus*, que les substances nucléaires aient un faible pouvoir électif. La différenciation est dès lors fort difficile et toutes les préparations sont en demi-teinte. Bien d'autres colorants que ceux que nous venons de citer ont été employés à titre d'essai et n'ont pas donné de bons résultats.

Dans une première partie nous comptons *décrire* séparément les deux espèces étudiées; dans une seconde partie nous *discuterons* les données qui ressortent de l'une et de l'autre de ces études, d'abord au point de vue du cycle d'évolution, ensuite au point de vue de la structure des spores. Enfin nous envisagerons la question du rang systématique qui convient aux deux espèces de microsporidies.

I. PARTIE DESCRIPTIVE.

A. Glugea danilewskyi L. Pfr.

Aspect macroscopique.

Le *Glugea danilewskyi*, — nous verrons au chapitre consacré à la systématique pourquoi nous nommons ainsi cette espèce, parasite le *Tropidonotus natrix*. L'infection se manifeste par la présence de petits kystes blanchâtres logés dans les muscles, surtout dans les intercostaux; on les trouve également dans les spinaux et il semble qu'ils puissent exister aussi dans les tendons et même dans les ligaments intervertébraux. Les kystes sont allongés dans le sens des fibres et mesurent de 0,5 à 2 mm. de long; on en trouve une dizaine ou une vingtaine dans les animaux les plus parasités.

Aspect microscopique.

Les kystes incisés ou blessés laissent échapper leur contenu en un lait chanchâtre; examiné au microscope, ce liquide montre une infinité de spores, tantôt presque toutes isolées, tantôt réunies en petits amas de quatre à trente individus.

En coupe, l'aspect que présentent les tumeurs est très variable.

Dans un premier type, FIG. 1, les spores sont réunies en petits amas, entourés chacun d'une membrane hyaline formant alvéole. Tous ces alvéoles se pressent les uns contre les autres se déformant mutuellement. Entre eux se trouvent, très irrégulièrement dispersés et assez rares, des stades jeunes, eux aussi entourés d'une membrane hyaline. La tumeur est entourée par du muscle; des fibres musculaires, en tout petits faisceaux et plus ou moins atrophiées, sont enclavées entre les amas de spores; des travées conjonctives plus ou moins développées traversent la tumeur; quelques noyaux musculaires de l'hôte se voient isolés à la périphérie ou dans la tumeur.

Si l'on examine la paroi kystique à un fort grossissement, FIG. 4, on observe à certains endroits la disposition suivante : à la périphérie il y a du muscle; immédiatement en dessous une espèce de membrane assez chro-

matique, irrégulière, striée, séparant le muscle d'une zone de protoplasme sous-jacent; dans ce protoplasme, où traînent peut-être quelques fibres musculaires atrophiées, existent des noyaux-hôtes assez volumineux; enfin au centre, la tumeur proprement dite, formée d'alvéoles qui renferment les spores et les éléments jeunes; dans les parois alvéolaires, quelques faisceaux musculaires. Il semble évident que la membrane, le protoplasme, et en partie au moins les parois alvéolaires, appartiennent à l'hôte.

Dans un second type de tumeur, FIG. 2, on trouve encore les spores réunies en amas irréguliers entremêlés de quelques rares stades jeunes; on ne trouve plus guère de fibres musculaires. Une couche de tissu conjonctif contenant quelques amas sporaux sépare la tumeur des muscles voisins; c'est une assise réactionnelle qui enkyste la tumeur.

Enfin dans un troisième type, FIG. 3, toute la tumeur est formée par un amas compacte de spores mûres tout à fait indépendantes les unes des autres; parfois quelques petits amas sporaux persistent, surtout à la périphérie où une zone de protoplasme de l'hôte, un peu plus dense, sépare la masse de la tumeur d'une large assise conjonctive périphérique.

Il est hors de doute que les trois types sont des aspects successifs présentés par une même tumeur, le premier représentant la tumeur jeune en voie d'évolution et d'accroissement, le dernier une tumeur âgée, enkystée, dont le développement est arrêté. C'est sous cet aspect que l'on trouve le plus souvent la tumeur, au point que pendant longtemps et dans de très nombreux objets étudiés nous n'avons trouvé que lui. Vainement nous avons essayé d'y découvrir des stades jeunes et de comprendre l'évolution du parasite.

Description des divers stades.

Nous voudrions dans ce chapitre ne donner que la description des stades successifs sans insister sur leur interprétation. Il est cependant impossible de faire abstraction de toute interprétation (ne fût-ce que pour dénommer les divers aspects décrits), mais nous y reviendrons dans le chapitre de synthèse, discutant alors notre façon de voir, faisant ressortir les points douteux et analysant le pour et le contre des questions hypothétiques.

On peut distinguer :

a) Multiplication nucléaire et formation des plasmodies.

b) Formation des sporoblastes.
c) Formation des spores.
d) Retour aux stades initiaux.

a) Multiplication nucléaire et formation des plasmodies.

Les stades jeunes se rencontrent éparpillés et logés entre les kystes secondaires ou kystes sporaux. Parfois ils sont isolés, parfois ils sont groupés en ilots formés de vingt à trente parasites à des âges différents, FIG. 5.

Les plus jeunes individus sont uninucléés, de dimensions variables, mesurant 2, 3 ou 4 μ; le noyau entouré d'une aréole claire apparait comme un granule chromatique dont il est impossible, vu sa petite dimension, d'analyser la structure, FIG. 5. Le stade uninucléé est éphémère et rare; tandis que le parasite s'accroît, les divisions nucléaires se succèdent sans repos.

Les divisions, au moins dans le cas le plus fréquent, sont d'un type assez simple; très souvent, et ce surtout avant une division, le granule nucléaire apparaît formé de deux granules constituants, FIG. 5, 16. Dès que commence l'étirement nucléaire, on observe deux petits amas chromatiques en chaque pôle; puis un peu plus tard on voit quatre granules réunis, suivant l'axe des pôles, par deux filaments plus ou moins chromatiques, FIG. 6. 7, 10, 11. A la télophase, les filaments unissants s'étant rompus, chaque noyau-fille est formé par deux granules élémentaires; bientôt il se divise à nouveau. Dans certaines préparations on se rend compte de l'existence de deux granules — probablement caryosomiens — qui, dès la promitose, se portent aux pôles du noyau en division, FIG. 18, 19. Dans ce cas on rencontre parfois, FIG. 19, des aspects fusoriaux rappelant ceux décrits par SWARCZEWSKY (14) dans *Glugea (Pleistophora* ou *Ichthyosporidium) gigantea*. Parfois les noyaux au moment de la division, surtout de la première, présentent un aspect un peu différent : les petites masses chromatiques sont moins nettement limitées, plus volumineuses, plus granuleuses; ces noyaux en division plongent dans une vacuole claire, FIG. 7, 8, 9. Cet aspect est beaucoup plus rare que le précédent. Faut-il lui attribuer une signification spéciale? Les différences sont parfois si peu marquées, FIG. 7, que nous ne le croyons pas.

A côté de ce mode de multiplication nucléaire caractérisé par le fait que les noyaux-filles se séparent après chaque division, il en existe un autre, à première vue différent. Les noyaux-filles ne s'éparpillent pas dans le pro-

toplasme et restent plus ou moins reliés entre eux; il peut y avoir ainsi formation de nombreux noyaux, groupés au centre du protoplasme, et plongeant dans un espace clair, FIG. 12-14. Ce n'est que plus tard que les noyaux-filles se dispersent dans le protoplasme où ils restent quelque temps encore unis entre eux, à deux ou à plusieurs, FIG. 15. Ce mode de multiplication nucléaire pourrait être interprété comme une multipartition simultanée; mais l'aspect des premiers stades, FIG. 12, et du stade final, FIG. 15, dans lequel on voit les noyaux doubles en voie de division bipolaire, semble indiquer que l'on se trouve en présence d'une variante de la division habituelle, les divisions bipolaires se succédant très rapidement.

L'aboutissant de cette première période de l'évolution est un parasite plasmodial, FIG. 16, 17, dont les nombreux noyaux montrent une tendance au dédoublement et à la division.

La question se pose de savoir si les parasites à ces stades ne peuvent pas se cloisonner irrégulièrement et donner des plasmodies à nombre restreint de noyaux ou même des parasites uninucléés qui recommencent le cycle. Des aspects comme celui de la FIG. 18 plaident en faveur de cette hypothèse, mais nous devons reconnaitre qu'ils ne sont pas probants.

b) Formation des sporoblastes.

Le processus d'évolution habituel de la plasmodie est la résolution en parasites uninucléés. Dans une plasmodie, à nombre de noyaux indéterminé, le phénomène s'annonce par l'apparition autour de chaque noyau d'une vacuole claire, FIG. 20, 21, puis le protoplasme se cloisonne et bientôt toute la plasmodie est réduite en éléments uninucléés indépendants, FIG. 23. Le noyau de chacun de ces éléments est assez volumineux; il est formé d'un amas irrégulier très chromatique, le plus souvent nettement dédoublé; il montre même une ébauche de division et on observe aisément que chaque amas polaire est formé de deux masses chromatiques élémentaires, FIG. 22. On pourrait se demander si chacun de ces individus ne se divise pas encore avant de s'isoler définitivement, FIG. 28. Nous ne le croyons pas; nous basant sur la dimension des noyaux et sur leur aspect double qu'ils conservent longtemps dans les parasites individualisés, nous croyons au contraire que l'on a affaire à une véritable ébauche de division amenant la formation d'une copula autogamique.

Les phénomènes évolutifs qui se passent dans les parasites à ce stade

sont difficiles à suivre; nous n'avons pu les observer que sur des préparations fixées au Bouin. Au début de cette période il semble y avoir un accroissement des individus uninucléés ou plutôt à noyau double, fig. 26, 27; peut-être n'est-il dû qu'à la turgescence provoquée par le fixateur. Les noyaux sont peu chromatiques, diffus et contiennent de nombreux granules.

Il est malaisé de se rendre compte de ce qui se passe à chaque stade; mais souvent on observe des aspects très caractéristiques à noyau allongé paraissant double et peut-être même cloisonné par une membrane médiane, fig. 24, 25; souvent aussi on observe dans le protoplasme accolé au noyau deux granules chromatiques. D'autres stades sont à grand noyau diffus, fig. 26, 27; comparés au stade précédent à noyau plus dense, mais nettement dédoublé, fig. 22, 23, ils indiquent un éparpillement chromatique par lequel l'ébauche de division disparait. Nous insistons sur ces aspects parce qu'ils représentent à nos yeux les stades de fécondation; chaque élément provenant de la division de la plasmodie serait une copula autogamique. Nous discuterons plus loin cette façon de voir, nous bornant ici à l'indiquer afin de faciliter et de rendre plus claire la description de l'évolution ultérieure.

Les copulæ autogamiques se ramassent sur elles-mêmes, ne remplissant plus toute la cavité du kyste secondaire et bientôt chacune se divise. Chaque noyau-fille hérite de deux granules très chromatiques intimement accolés; à la télophase ils restent longtemps unis entre eux par une ou deux travées assez colorables, fig. 29, 30, 31. Aux dépens de chaque amas polaire un noyau se reforme, le protoplasme se divise, fig. 32, 33, et il y a formation de deux sporoblastes aux dépens de la copula autogamique.

Ce processus est certainement le plus fréquent; nous ne croyons pas que la copula puisse se transformer directement en sporoblaste ni que deux divisions successives fassent naitre quatre sporoblastes d'une seule copula; nous n'oserions cependant pas nier le fait.

c) *Formation des spores.*

Le processus de transformation du sporoblaste en spore est plus aisé à suivre dans le *Glugea mülleri* que dans cette espèce-ci, où la ténuité des spores rend l'observation difficile.

Le sporoblaste s'allonge, et le noyau, assez volumineux, sphérique, se porte à une des extrémités que nous considérerons comme postérieure, fig. 34 35, 39. Les premiers phénomènes qui se passent alors sont diffi-

ciles à établir; les aspects sont excessivement variables, FIG. 34-38, et il nous est impossible de les sérier dans les objets étudiés ici. Le processus devient clair à partir du moment où au-devant du noyau postérieur il existe dans le protoplasme une traînée de substance plus colorable, FIG. 39, 41. Un granule très colorable apparaît alors à la partie antérieure de la spore, et autour de lui se forme une vacuole claire, FIG. 42. Une vacuole se forme également à la partie postérieure de la spore et s'aggrandit en même temps que la vacuole antérieure; il en résulte que le protoplasme se condense à la partie médiane et périphérique de la spore. Il forme un anneau équatorial et un fin trajet tubulaire unit les cavités antérieure et postérieure, FIG. 42, 43, 44.

Dans la vacuole antérieure on distingue ultérieurement une structure plus complexe; le granule chromatique est en relation par un filament colorable avec un amas chromatique assez volumineux situé à la partie postérieure de la vacuole, FIG. 44-46, 49.

Dans la vacuole postérieure un granule informe représente sans doute le noyau; quelques travées colorables existent généralement, souvent en tigelle axiale, FIG. 46, 50; nous n'avons pas pu déceler de filament spiralé. Sur matériel frais il ne nous fut pas non plus possible de provoquer la dévagination du filament, mais les essais ne furent pas assez nombreux pour nous permettre de nier son existence, et il nous fut impossible d'obtenir du nouveau matériel frais.

Parmi les spores on en observe de dimensions très diverses; en moyenne elles mesurent 3 à 4 μ de long, mais il en existe de notablement plus grandes, de 6 à 7 μ, FIG. 49, 50. Elles sont relativement rares, soit en majorité dans un kyste secondaire, soit isolées dans un kyste bourré de spores moyennes. Il existe aussi des spores plus petites que la moyenne; on peut évidemment parler de macrospores et de microspores, mais il ne semble pas que ces deux types constituent des catégories distinctes. Il est probable que les sporoblastes très allongés, FIG. 36-38, donneront naissance à des macrospores.

d) Retour aux stades initiaux.

On rencontre parfois des individus plasmodiaux réunis à plusieurs dans un même kyste secondaire, FIG. 51-53. Il n'est pas possible d'admettre dans ce cas la résolution d'une plasmodie en éléments uninucléés : nous avons vu plus haut que cette division protoplasmique se fait en une fois, non par

cloisonnements successifs, et seulement quand les divisions nucléaires ont cessé. Une autre interprétation est très probable et confirmée par l'aspect représenté par la FIG. **51** : lorsque la division sporoblastique est ébauchée, il arrive que les sporoblastes ne s'isolent pas ou ne se transforment pas en spores; les divisions nucléaires se succédant, ils se transforment en plasmodies; entre celles-ci se forment des membranes de kystes secondaires, FIG. **53**, et de la sorte le cycle est régénéré et recommence dans le même hôte.

Les stades des FIG. **50**, **51**, **52** font suite à ceux des FIG. **29**, **30**, **31**, et précèdent les aspects initiaux, FIG. **5**.

B. Glugea mülleri L. Pfr.

Aspect macroscopique.

Le *Glugea mülleri* parasite les muscles de *Gammarus locusta* L. Il infecte en abondance et à toute saison les animaux récoltés dans les environs de Louvain. L'infection se reconnait aisément à l'examen extérieur de l'animal vivant : les faisceaux musculaires parasités apparaissent, à travers la carapace chitineuse plus ou moins transparente, sous forme de filaments blancs de 0,5 à 2 mm. de long; les faisceaux parasités se trouvent surtout à la partie postérieure du corps; il y en a parfois un seul, parfois une dizaine dans un même animal; nous avons toujours observé qu'ils restent indépendants les uns des autres.

Aspect microscopique.

De même que pour l'espèce précédente le contenu de la tumeur s'échappe dès que celle-ci est sectionnée, et il contient en abondance de petits amas de spores. Elles sont réunies en nombre très variable, parfois par quatre seulement, au maximum à une trentaine.

En coupe microscopique l'aspect des tumeurs est assez constant et semblable à l'aspect du type I ou II, décrit plus haut pour le *Glugea danilewskyi*. En général cependant l'infiltration du tissu musculaire par les parasites est plus marquée et la limite entre tissu sain et tissu infecté est vague. Parfois l'analogie entre les infections produites par les deux espèces

est telle qu'à première vue il est difficile de reconnaître les préparations provenant de l'une ou de l'autre; ce n'est que par l'analyse des détails qu'on peut les distinguer.

On a vu que les aspects décrits pour *Glugea danilewskyi* correspondent à des tumeurs d'âge différent et que le type III représente la tumeur enkystée. Il est probable que dans le *Gammarus* la tumeur ne vieillit pas au point de pouvoir s'enkyster, la vie de l'hôte étant trop brève.

Description des divers stades.

a) Multiplication nucléaire et formation des plasmodies.

Les stades jeunes se rencontrent isolés ou en ilots parfois uninucléés, généralement multinucléés, FIG. 54, 59. Dans les divisions nucléaires on observe que dès que les noyaux-filles atteignent les pôles, et alors qu'ils sont reliés encore par un filament unissant, ils sont formés de deux granules, FIG. 54, 60, 61. On observe parfois très nettement l'existence de deux granules polaires unis entre eux par un mince filament et situés au pôle bien avant que les éléments chromatiques du noyau soient en anaphase; ils sont probablement de nature caryosomienne, FIG. 55.

Nous n'avons pas observé la multiplication nucléaire par éparpillement simultané de nombreux noyaux, telle qu'elle apparait parfois dans le *Glugea danilewskyi*, FIG. 12-15; par contre on observe des individus à grand noyau vacuolaire, FIG. 56-59, et parfois il existe dans le protoplasme de nombreuses enclaves granuleuses très chromatiques périnucléaires, FIG. 57. Ces aspects rappellent beaucoup ceux décrits par SWARCZEWSKY (14, fig. 10) dans le *Glugea gigantea*. Nous reviendrons plus loin sur leur interprétation.

b) Formation des sporoblastes.

Par segmentation du protoplasme la plasmodie se résout en éléments simples; les noyaux sont entourés d'une aréole claire et sont dédoublés, FIG. 63-66; plus tard les copulæ autogamiques diminuent de volume n'occupant plus toute la cavité du kyste secondaire, FIG. 66. Les noyaux sont nettement dédoublés, mais il est plus rare et plus difficile que dans l'espèce précédente d'observer le développement nucléaire et le diplocaryon autogamique, FIG. 65-67. Comme nous l'avons déjà fait remarquer, la netteté des préparations de cette espèce laisse en général à désirer; malgré le grand

nombre de préparations faites avec les colorants les plus variés, fort peu ont montré une différenciation satisfaisante entre noyau et protoplasme. Guidé par les observations faites sur le *Glugea danilewskyi*, on s'oriente assez aisément dans l'analyse des aspects observables ici et l'on observe les mêmes stades que ceux décrits pour la première espèce.

Chaque copula donne naissance à deux sporoblastes. La division nucléaire est très nette : lors de la télophase il existe deux granules distincts en chaque pôle; ils restent longtemps unis entre eux par deux filaments plus ou moins colorables, FIG. 68-71. Deux noyaux-filles se reforment et le protoplasme se segmente, FIG. 72, 73.

c) *Formation des spores.*

La formation des spores est plus facile à étudier dans cette espèce que dans le *Glugea danilewskyi*; il n'y a aucun doute possible que le processus soit absolument analogue dans les deux espèces. Les spores de *Glugea mülleri* sont plus grandes que celles de *Glugea danilewskyi*; leurs dimensions moyennes sont de 5 à 6 μ sur 2 à 3 μ.

Les sporoblastes prennent une forme ovoïde; le noyau se porte au gros bout ou extrémité postérieure, tandis qu'à l'extrémité antérieure un granule chromatique apparait dans le protoplasme; il est généralement entouré d'une vacuole, FIG. 74-76. Ce granule est colorable en rouge réfringent par la safranine; par l'éosine-azur il est également coloré en rouge, étant beaucoup plus électif pour cette teinte que le noyau lui-même. L'origine de ce granule n'est pas connue et nous ne savons s'il provient du noyau ou pas; il paraît naître dans le protoplasme, mais, comme nous l'avons vu plus haut, il est possible que les premiers phénomènes d'évolution du sporoblaste échappent à l'investigation, et par conséquent toute affirmation serait ici prématurée.

La vacuole antérieure se développe jusqu'à n'être plus séparée de la membrane sporale que par une très mince couche protoplasmique, qui probablement disparaît tout à fait; le granule chromatique augmente de volume, devient plus irrégulier, FIG. 76-78, se transforme alors en haltère; l'une des masses est appliquée au sommet de la spore, un peu excentriquement, et reliée par une tige à l'autre masse qui est au contact du protoplasme, FIG. 82, 84.

Le noyau, postérieur, se dilate considérablement et finalement toute l'extrémité obtuse de la spore est occupée par une vaste vacuole séparée la-

téralement de la membrane sporale par un mince manchon de protoplasme, FIG. 76-84. La partie chromatique du noyau, réduite à un grumeau irrégulier, se retrouve soit à la partie postérieure de la vacuole, soit latéralement, FIG. 80-83, ou bien le noyau est invisible, se trouvant probablement caché dans le protoplasme, FIG. 84.

Le protoplasme se trouve comprimé entre la vacuole antérieure et la postérieure, prenant au centre de la spore la forme d'une lentille biconcave; un canalicule, généralement excentrique, traverse le protoplasme et fait communiquer la chambre antérieure avec la chambre postérieure, FIG. 80, 81, 83, 84. Le protoplasme tapisse la vacuole postérieure de la spore et c'est là qu'apparaît le filament spiralé; généralement apparent, il est le mieux mis en évidence par la coloration à la safranine. Il forme deux à trois tours de spire, FIG. 80-84, et il semble que l'une de ses extrémités soit en relation avec le canalicule qui fait communiquer les deux vacuoles. Nous n'avons pas pu provoquer la dévagination du filament spiralé.

Ajoutons que assez souvent on peut observer au centre de la vacuole postérieure une tigelle axiale, FIG. 80, et disons aussi que dans cette espèce, de même que dans la plupart des microsporidies, les dimensions des spores sont très variables; il n'est pas possible cependant de séparer par une limite nette les microspores des macrospores.

d) Retour aux stades initiaux.

De même que dans le *Glugea danilewskyi*, on trouve dans cette espèce des plasmodies réunies dans un même kyste secondaire, FIG. 85, 86.

Nous avons dit plus haut que probablement ils dérivent de sporoblastes incomplètement séparés et régénèrent par divisions nucléaires répétées les stades initiaux du cycle. Les FIG. 85, 86 font donc suite aux FIG. 68, 69.

II DISCUSSION.

Dans la première partie de cette étude nous nous sommes borné à décrire; il nous reste à motiver et à discuter notre façon de voir en même temps qu'à la comparer aux résultats acquis par d'autres. Nous envisagerons successivement :

A. Le cycle d'évolution et les diverses particularités qu'on y rencontre.

B. Les spores, leur structure et leur formation.
C. Le rang systématique des espèces étudiées ici.

A. Le cycle d'évolution.

Le cycle d'évolution du *Glugea danilewskyi* et du *Glugea mülleri*, tel que nous le concevons, peut se résumer dans le schéma suivant :



Il y a deux cycles distincts : l'un suppose le changement d'hôte et les spores assurent la conservation du germe pendant la période extracorporelle (1-10, 13-18); l'autre évolue tout entier dans le corps de l'hôte (1-12-1).

Le premier cycle comprend une période de multiplication végétative ou de reproduction agame qui se fait par bipartitions successives du noyau et aboutit à la formation de plasmodies (1-5). Une variante dans le *Glugea danilewskyi* consiste dans l'éparpillement simultané des noyaux-filles (2', 3', 4'), une autre dans le *Glugea mülleri* consiste dans la production de grands noyaux (2'', 3''). Suit une seconde période de reproduction sexuée; les plasmodies se résolvent en copulæ autogamiques (6-9), aux dépens de chacune naissent deux sporoblastes (10, 13-15), chaque sporoblaste donne une spore (16-18). La partie du cycle qui consiste dans la transformation de la spore en individu asexué jeune, nous est inconnue; elle est accompagnée de la désagrégation de l'hôte, qui libère la spore, et de l'ingurgitation de celle-ci par un individu-hôte.

Le second cycle comprend une période du multiplication végétative analogue à celle du premier cycle (1-5); puis une période de reproduction sexuée dont la première partie ou la formation des copulæ autogamiques est également analogue à celle du premier cycle (6-9) et dont la seconde consiste dans la régénération de stades végétatifs uninucléés ou plasmodiaux aux dépens de la copula autogamique, qui en ce cas ne se transforme pas en sporoblastes (11-12-1).

Ce cycle d'évolution, qui nous parait le plus probable, diffère notablement de ceux qui ont été décrits jusqu'à présent; et cependant nous avons la conviction que des espèces à évolution très analogue ont déjà été étudiées.

1° A considérer le *cycle dans son ensemble*, nous écartons l'idée d'une forme végétative se transformant en plasmodie et donnant par différenciation endogène des « pansporoblastes » et des spores. Cette évolution fut admise pour *Glugea*, *Duboscquia*, *Myxocystis* par Mrazek (97), Hesse (05), Awerinzew et Femor (11), Stempell (04), Thélohan (95), Perez (05) et beaucoup d'autres. Mrazek (97) a répudié cette théorie (10). D'après elle, chacune des tumeurs que nous voyons ne serait qu'un seul parasite plasmodial; on ne pourrait parler d'individualités nouvelles que pour les spores et lors de leur libération. Cette façon de voir est insoutenable : chaque parasite végétatif uninucléé ou plasmodial constitue un individu isolé et indépendant des autres, isolés dans un kyste secondaire, à la formation duquel le tissu-hôte concourt. Chaque tumeur est formée de milliers d'individus indépendants, provenus de la multiplication d'un individu primitif, et infiltrant le tissu de l'hôte d'une façon diffuse.

2° La *multiplication végétative* présente de grandes analogies avec la période correspondante décrite par SWELLENGREBEL (14) pour *Glugea (Ichthyosporidium)*, a des analogies avec ce qui fut décrit par CAULLERY et MESNIL (05-06) pour plusieurs haplosporidies et n'est pas incompatible avec les descriptions de FANTHAM et PORTER (12) pour *Nosema apis*.

Elle consiste dans la transformation de petits agamontes uninucléés en plasmodies qui se résolvent alors en individus uninucléés (à noyau double), FIG. **5-21** et **54-62**. Les multiplications nucléaires se font très généralement par bipartitions successives; dans *Glugea danilewskyi* on retrouve l'éparpillement simultané de noyaux-filles, FIG. **12-15**, et dans *Glugea mülleri* la formation de grands noyaux, FIG. **56**, **57**, **59**, l'un et l'autre décrits par SWARCZEWSKY (14).

3° La *fécondation* constitue la période la plus discutée du cycle des microsporidies. Beaucoup d'auteurs n'en parlent pas; d'autres croient à la fécondation après sortie du germe amiboïde binucléé hors de la spore, FANTHAM et PORTER (12), STEMPELL (02, 04, 09); d'autres croient à l'hétérogamie avant la formation des sporoblastes, MERCIER (09), SWARCZEWSKY (14); d'autres enfin donnent une description qui permet de croire à l'autogamie avant la formation des sporoblastes, SWELLENGREBEL (11), CAULLERY et MESNIL (05-06).

Sans nier que la fécondation puisse s'achever dans la spore dont le noyau unique pourrait être formé de deux moitiés — nous ne le nions pas, mais nous n'y croyons pas! — il nous paraît certain qu'elle est ébauchée avant la formation des sporoblastes. Le fait que cette façon de voir cadre avec ce que nous connaissons de tant d'autres protozoaires, que les individus uninucléés s'isolent de la plasmodie et que leur noyau subit des modifications profondes avant de subir une nouvelle division, que cette division sporogoniale a une allure différente des divisions antérieures, appuie notre façon de voir.

Dans les espèces étudiées ici, on ne peut admettre une hétérogamie, premièrement parce que aucun des aspects observés ne la représente, ensuite parce que la succession des stades, telle qu'elle s'impose, ne laisse pas de place à une hétérogamie. Le nombre d'individus, résultant de la division de la plasmodie, paraît égal au nombre de noyaux plasmodiaux, et le nombre de copulæ paraît égal au nombre d'individus provenus de la plasmodie.

Reste l'autogamie : la description de SWELLENGREBEL (11) pour le *Glu-*

gea (Pleistophora) gigantea est, il est vrai, contredite par Swarczewsky (14) qui étudie le même objet. Il serait difficile et imprudent de partager l'avis de l'un ou de l'autre de ces auteurs sans avoir les préparations sous les yeux, surtout qu'on doit regretter de la part de l'un des dessins trop schématiques, et de la part de l'autre des dessins faits, pour les stades en question, d'après des préparations imparfaitement fixées. D'autre part, nous avons décrit un processus d'autogamie dans les *Thelohania* (13) et de nouvelles recherches, Debaisieux et Gastaldi (15), confirment l'existence de ce processus, qui est remarquablement net. Quoique les aspects soient moins clairs dans les *Glugea* étudiés ici, nous sommes convaincu qu'un processus analogue y existe.

Le fait qu'il existe un stade à noyau nettement dédoublé ne paraît pas être discutable, fig. **22-27, 63-67**; les raisons que nous venons d'énoncer, qui conduisent à croire à l'existence à ce moment d'une fécondation, celles qui empêchent de croire à une hétérogamie, le fait que les noyaux plasmodiaux se dédoublent progressivement, et la comparaison avec le processus établi pour le *Thelohania*, conduisent à considérer ces aspects de noyaux dédoublés comme des copulæ autogamiques.

Disons encore que Schuberg (10) donne des dessins (nº 43) non interprétés dans le texte qui montrent nettement des diplocarya avant la sporulation, ce qui conduit à croire qu'un processus analogue à celui admis ici existe pour le *Pleistophora longifilis*.

4º La *sporogonie* est annoncée par la formation de deux sporoblastes aux dépens de la copula autogamique. Swellengrebel (11) croit qu'il ne se forme qu'un seul sporoblaste, qui se transforme en spore; Swarczewsky (14) décrit la division du sporonte en deux ou plusieurs sporoblastes.

Dans les *Glugea* étudiés ici, il est certain que la copula se divise généralement, et rien ne fait croire qu'elle se divise plus d'une fois; mais, comme nous l'avons fait remarquer dans la partie descriptive, si on peut affirmer que la production de deux sporoblastes est la règle, on ne peut affirmer qu'elle soit sans exceptions.

La transformation du sporoblaste en spore étant sans relation avec la discussion du cycle évolutif, elle fera l'objet d'un chapitre spécial.

5º *Le retour à la reproduction végétative*. On a vu plus haut que les parasites à noyau double, provenus de la fragmentation des plasmodies, peuvent, subissant une ou plusieurs divisions nucléaires, ne pas donner des sporoblastes, mais régénérer le cycle végétatif, fig. **51-53; 85, 86**. Nous ne

croyons pas que le fait d'auto-infection par des stades de sporogonie ou par des spores ait déjà été décrit pour les microsporidies. Nous l'avons admis pour le *Thelohania varians* (13), où « les jeunes mérontes paraissent provenir, en grand nombre du moins, de la libération sur place du germe amiboïde d'une spore, mais très probablement d'une spore non mûre ou d'une variété de spore non durable et dépourvue de capsule polaire ». Le fait se confirme et se généralise par de nouvelles recherches sur le même objet, Debaisieux et Gastaldi (15). Dans d'autres groupes un retour analogue aux stades végétatifs après la fécondation fut parfois observé, notamment chez les flagellates, pour *Copromonas subtilis*, par Dobell (08).

a) Une première question qui se pose est de savoir si ce retour à la multiplication végétative ne se fait pas avant la fécondation; on aurait alors affaire à une véritable schizogonie donnant des mérozoïtes qui recommencent le cycle; cette évolution, classique chez les protozoaires, a notamment été décrite pour *Glugea gigantea;* mais dans les *Glugea* qui nous intéressent il n'y a rien de semblable; les stades qui régénèrent le cycle, sont à diplocaryon; et il paraît bien dès lors y avoir fécondation au moins ébauchée.

b) Quant aux raisons qui conduisent à admettre ce retour aux stades végétatifs, elles résident dans l'interprétation des aspects reproduits par les FIG. 51-53 et 85, 86. Ces aspects ne peuvent pas être interprêtés comme un cloisonnement progressif de plasmodie végétative; car, comme nous l'avons vu, quand la plasmodie se cloisonne, les noyaux ne sont plus en division et sont au contraire dans un stade de repos relatif, entourés d'une aréole claire; de plus le cloisonnement plasmodial n'est pas progressif, mais les copulæ s'isolent simultanément. L'aspect seul des stades observés et des dessins suffit d'ailleurs à les rapprocher des divisions de copulæ en sporoblastes.

Un argument théorique pourrait à la rigeur appuyer cette façon de voir : la transformation des copulæ en stades végétatifs explique l'accroissement continu de la tumeur et l'existence d'îlots épars de parasites jeunes. Ces îlots épars expliqués par la division d'éléments végétatifs uninucléés conduiraient à supposer la migration de ces éléments à l'intérieur de la tumeur, ce qui est incompatible avec l'existence des kystes secondaires.

B. Formation des Spores.

La première description de formation des spores fut donnée par Thélohan (95). Il observe dans le sporoblaste trois noyaux; l'un d'eux concourt à la formation de la capsule polaire, les deux autres restent dans le protoplasme et donnent le germe amiboïde.

Cette description devint classique et par la suite les chercheurs ne firent que la compliquer davantage. Stempell (04) observe quatre noyaux, deux capsulogènes et deux amiboïdes; Léger et Hesse (07), Mercier (08, 09), Fantham et Porter (12), Schröder (09) décrivent tous, — avec des variantes, — cinq noyaux dont deux amiboïdes, deux valvaires et un capsulogène. Schuberg (10) donne une description toute différente; il n'existe d'après lui qu'un seul noyau à côté duquel peuvent exister en nombre variable des granules métachromatiques; le noyau serait logé dans la zone annulaire du protoplasme. Ohmori (12) confirme plusieurs des observations de ce dernier auteur, et nous-même (13) nous nous sommes déjà rallié, sur plusieurs points, à sa façon de voir. Enfin Swarczewsky (14) observe dans le sporoblaste une division équipolaire du noyau semblable à celle qui a précédé la formation des deux sporoblastes. Le noyau postérieur formé de deux granules, reste dans la spore; le noyau antérieur, d'abord formé de deux granules, dégénère; un des fragments qui en dérive, change de colorabilité et donne le granule chromatique antérieur de la spore.

L'existence d'une zone équatoriale de protoplasme fut fréquemment dessinée sans être interprétée. Stempell (04) fait observer qu'elle peut être perforée; Schuberg (10) met le fait bien en lumière; Fantham et Porter (12) font observer qu'elle est traversée par le filament spiralé.

La capsule polaire fut généralement considérée comme un élément bien défini, à membrane propre. Stempell (04), Fantham et Porter (12) font observer que le filament spiralé se prolonge dans la vacuole postérieure. Schuberg (10) n'admet pas la capsule polaire comme élément défini; le filament spiralé se trouve inclus dans la vacuole postérieure; dans l'antérieure on observe une tige simple.

Nos observations nous conduisent aux conclusions suivantes :

Le *noyau* dans le sporoblaste est unique, logé à la partie postérieure; à ce niveau se développe la vacuole postérieure et le noyau persiste dans la spore, réduit à un grumeau chromatique. D'après l'interprétation de Schuberg (10), cette masse chromatique ne serait qu'un granule métachro-

matique; le noyau serait logé dans le protoplasme. Quant à nous, nous n'avons jamais pu découvrir de noyau dans le protoplasme, même après l'usage de l'éosine-azur, employée par SCHUBERG; d'autre part, l'élément postérieur du sporoblaste, alors que celui-ci est encore bien colorable, a un aspect si parfaitement nucléaire qu'il nous parait impossible de méconnaitre sa nature, FIG. 34, 35, 39, 74, 75. La transformation de ce noyau en grumeau chromatique avec formation à sa place d'une vacuole est certes très énigmatique, mais nous ne voyons pas actuellement d'autre explication possible des stades observés. La place que le noyau occupe finalement dans la spore mûre se trouve à un endroit quelconque de la périphérie de la vacuole postérieure dans laquelle il fait hernie; il peut se trouver à la partie supérieure de cette vacuole et alors disparaitre dans le protoplasme.

Il n'est pas question de noyaux valvaires; il n'existe d'ailleurs pas deux valves, mais une seule enveloppe sporale. Quant au noyau capsulogène, son existence est douteuse. Il y a un granule chromatique qui est en relation avec l'appareil cnidaire. Ce granule, qui apparait à la partie antérieure de la spore, est de colorabilité nettement différente de celle du noyau; mais il n'est pas impossible qu'il provienne du noyau, soit par expulsion, soit même par division. La description que SWARCZEWSKY (14) donne de cette formation, nous parait en tout cas fort sujette à caution; et nous sommes très enclin à croire qu'il a pris pour une division post-sporoblastique, ce qui n'est qu'une division pré-sporoblastique ordinaire.

D'autre part, nous croyons à l'existence dans la spore d'éléments chromidiaux, qui concourent à la formation de l'appareil cnidaire. Il existe en effet dans les spores jeunes de *Glugea danilewskyi* des trainées chromatiques dans le protoplasme, FIG. 39, 41; la formation du filament spiralé aux dépens de chromidies a été observée sur des objets très favorables — dans les cnidoblastes de métazoaires — par MOROFF (10) et dans les spores de myxosporidies par AWERINZEW (08).

Le *protoplasme*, qui d'abord occupe tout le sporoblaste jeune, est progressivement refoulé par le développement des vacuoles antérieures et postérieures; il est finalement réduit à un mince revêtement de la paroi sporale et à un disque biconcave au centre de la spore. Un fin canalicule, généralement excentrique, traverse ce disque [SCHUBERG (10), FANTHAM et PORTER (12)].

L'*appareil cnidaire*. Nous n'employons pas le terme de capsule polaire, car il n'existe pas de capsule propre; les deux vacuoles et leur contenu font

partie de cet appareil Dans la vacuole antérieure il existe deux granules chromatiques, réunis par une mince tigelle; l'un est au contact de la membrane sporale, l'autre au contact du protoplasme. Cette particularité de même que toutes celles observées jusqu'ici dans la spore, sont communes aux deux espèces étudiées.

La vacuole postérieure présente un aspect différent, suivant l'espèce étudiée. Dans le *Glugea mülleri* il existe un filament bien distinct et parfois une columelle centrale semblable à celle décrite par Schuberg (10). Le filament ne paraît pas se prolonger dans la vacuole antérieure; son extrémité fixe se trouverait au bord du canalicule protoplasmique. Dans le *Glugea danilewskyi* on observe parfois la columelle, mais jamais le filament.

La conception que l'on peut se faire du fonctionnement de l'appareil cnidaire est évidemment hypothétique; nous croyons qu'il se compose de deux parties bien distinctes : dans la vacuole antérieure existe un mécanisme d'éclatement; dans la vacuole postérieure se trouve le filament spiralé, dévaginable en doigt de gant à travers le canalicule protoplasmique.

Avant de terminer ce chapitre, nous voudrions dire un mot des spores observées par Swarczewsky (14) dans *Glugea gigantea*. Les dessins qu'il en donne ressemblent à s'y méprendre aux aspects que l'on rencontre dans *Glugea mülleri* : vacuole antérieure avec granule terminal, relié au protoplasme, situé en une zone équatoriale; vacuole postérieure sans filament spiralé. L'auteur rattache cette espèce aux haplosporidies. Nous parlerons bientôt de la systématique; qu'il nous suffise de dire ici que par ses spores, le *Glugea gigantea* est étroitement apparenté au *Glugea mülleri*.

C. Systématique.

a) L'espèce.

La microsporidie que nous avons trouvée dans les muscles de *Tropidonotus natrix* est très probablement la même que celle décrite par Danilewsky (91) dans les muscles de batraciens et de reptiles, où elle provoque des tumeurs fusiformes blanches de 1 mm. à 1,5 mm., dans lesquelles il y a des spores de 3 à 4 μ. Pfeiffer (95*b*) dénomme le parasite *Glugea danilewsky*; Labbé (99) l'appelle *Pleistophora danilewsky* et le décrit : « Masses plasmiques irrégulières dans les cellules musculaires, formant de petites sphères granulées, ayant jusqu'à 1 cm. de long. Les plus

petites masses plasmiques ont de 3 à 4 μ de long. Vésicules de 16 à 640 μ, à membrane mince, renfermant 8 à 100 spores. Spores de 3 à 4 μ, piriformes ou ovalaires, réfringentes. Filament? »

La microsporidie trouvée dans les muscles de *Gammarus locusta* L. paraît être la même que celle décrite dans ce même hôte par PFEIFFER (95*a*, 95*b*), dénommée par lui *Glugea mülleri*, espèce qui a des sporoblastes donnant naissance à un nombre variable de spores. Se basant sur ce caractère, LABBÉ (99) dénomme cette espèce *Pleistophora mülleri* et donne comme diagnose : « Vésicule sphérique de 10 à 40 μ contenant 8 à 32 spores. Spores piriformes avec filament de 15 μ, sortant par l'éther ». STEMPELL (91, 92) étudie une microsporidie musculaire de *Gammarus* et remplace le nom de *Pleistophora mülleri* par celui de *Thelohania mülleri*, sous prétexte que dans l'espèce qu'il étudie le nombre de spores est de 8 dans chaque sporoblaste. L'infection, fait-il observer, se caractérise par l'aspect blanchâtre de l'hôte infecté. Aucun des stades dessinés par STEMPELL ne ressemble à ceux que nous avons observés; nous ne trouvons à ce fait qu'une seule explication, c'est que cet auteur s'est trouvé en présence d'un parasite appartenant à un autre genre que celui décrit par PFEIFFER et étudié ici, et qu'il a eu tort de le dénommer *mülleri*.

L'identité des deux espèces décrites ici avec des espèces antérieurement connues, détermine les dénominations spécifiques qui doivent leur être attribuées : *danilewskyi* et *mülleri*.

b) Le genre.

Quant à la dénomination générique qui leur convient, elle est plus malaisée à établir. Ce n'est pas qu'il manque de classifications de microsporidies; au contraire, il y en a trop; mais le nombre de genres dont l'évolution est définitivement établie étant fort restreint, les caractères envisagés sont ou bien sujets à caution ou bien arbitraires, et les classifications sont provisoires. Il sera nécessaire d'en refaire une, mais il faut attendre.

Plutôt que de recourir à des classifications, il vaut mieux comparer directement aux autres espèces connues et aux types génériques établis.

Que les deux espèces étudiées ici appartiennent au même genre est évident et ne demande pas de commentaires. De plus :

1° Elles appartiennent au même genre que *Pleistophora longifilis* de SCHUBERG (10); la structure des spores, leur nombre variable dans chaque alvéole, l'aspect des stades jeunes et surtout l'aspect général de la tumeur,

non décrit par l'auteur, mais rendu nettement par ses photogravures, ne laissent pas de doute à ce sujet.

2° Elles ressemblent beaucoup, par l'allure générale de l'infection de même que dans la plupart de leurs stades, au *Glugea gigantea (Pleistophora g.)* Swellengrebel (11). Cette espèce, réétudiée par Swarczewsky (14), a été différemment décrite par lui ; et certains des stades qu'il observe ressemblent étonnamment à ceux décrits ici ; notamment l'allure des plasmodies, les multipartitions simultanées des noyaux, les divisions des sporoblastes et enfin les spores. Nous avons discuté plus haut les interprétations émises concernant l'évolution de cette espèce qui, débaptisée par Swarczewsky, devient l'*Ichthyosporidium giganteum* et appartient aux haplosporidies.

3° Elles appartiennent indubitablement au même genre que le *Glugea anomala* (Thél.) décrit comme *Nosema a.* par Labbé (99). Cette affirmation paraîtra erronée si l'on s'en rapporte à l'étude de cette espèce par Stempell (04). Nous avons nous-même repris cette étude, dont les résultats seront publiés sous peu, et ayant le *Glugea anomala* sous les yeux, nous pouvons affirmer que la description aberrante, donnée par Stempell, est fausse. Cette espèce a une ressemblance telle avec les deux espèces étudiées ici qu'il n'y a pas de raison de les séparer génériquement.

Nous avons donc l'embarras du choix quant à un nom générique à appliquer aux deux espèces étudiées ici. *Nosema? Pleistophora? Ichthyosporidium? Glugea? Glugea* a le droit de primogéniture pour lui ; mais il y a plus : l'analogie qui existe avec le *Glugea anomala*, qui est le type du genre créé par Thélohan (91), conduit à admettre les deux noms de *Glugea danilewskyi* (L. Pfeif.) et de *Glugea mülleri* (L. Pfeif.).

c) La famille.

Nous venons de voir que les deux espèces qui nous intéressent ont de grandes ressemblances avec le *Pleistophora gigantea (Ichthyosporidium giganteum)*, et que cette espèce est rangée par Swarczewsky (14) parmi les haplosporidies. On pourrait se demander si les parasites étudiés ici ne sont pas aussi des haplosporidies; nous croyons au contraire que c'est l'*Ichthyosporidium* qui doit reprendre rang parmi les microsporidies.

Les deux raisons principales données par Swarczewsky pour motiver la mutation, sont :

1° Qu'il ne voit pas de filament spiralé dans la spore. — Nous n'en

voyons pas non plus dans *Glugea danilewskyi* à spores analogues à celles de *Ichthyosporidium giganteum*, et cependant toute l'évolution et tous les aspects de cette espèce sont si semblables à ceux de *Glugea mülleri* qu'il n'y a pas moyen de les séparer l'un de l'autre.

2° Qu'il n'observe pas de stades intracellulaires. — Toute l'évolution se fait cependant comme pour beaucoup d'autres microsporidies dans les tissus avec modification dans les cellules et hypertrophie des noyaux-hôtes. Ajoutons que dans le *Pleistophora (Cœlosporidium) periplanetæ*, que Swarczewsky range parmi les haplosporidies pour cette même raison, nous venons de découvrir des stades intracellulaires indubitables (observations non encore publiées).

La conclusion qui se dégage de cette discussion, forcément un peu longue, c'est que les parasites musculaires du *Tropidonotus* et du *Gammarus* sont le *Glugea danilewskyi* et le *Glugea mülleri*, deux *microsporidies*.

BIBLIOGRAPHIE. (1)

1908 *Awerinzew* : Studien ueber parasitische Protozoen; Trav. Soc. Natur. St-Pétersbourg, t. 38.

1911 *Awerinzew* et *Femor* : Studien ueber parasitische Protozoen. — Sporenbildung bei *Glugea anomala*; Arch. f. Protist., t. 23.

1905-06 *Brazil* : Reproduction des Grégarines; Arch. Zool. exp. et génér., 4e série, t. 4.

1905-06 *Caullery* et *Mesnil* : Recherches sur les Haplosporidies; Arch. Zool. exp. et génér., 4e série, t. 4.

1891 *Danilewsky* : Ueber die Myxoparasiten der Amphibien u. Reptilien; Centralbl. Bakt., t. 9, p. 9.

1913 *Debaisieux* : Microsporidies parasites des larves de *Simulium;* La Cellule, t. 30.

1914 » : Recherches sur les Coccidies. IV, *Eimeria Cystis-felleæ;* La Cellule, t. 30.

1915 *Debaisieux* et *Gastaldi* : Microsporidies parasites des larves de *Simulium.* II; La Cellule, t. 30.

1908 *Dobell* : *Copromonas subtilis;* Q. J. M. Sc., t. 52, p. 75.

1909 *Doflein* : Lehrbuch der Protozoenkunde; II. Edit. Iena.

1912 *Fantham* et *Annie Porter* : The Morphology and Life-history of *Nosema apis;* Ann. trop. Med. Parasit. Liverpool, t. 6, p. 163-195.

1905 *Hesse* : Sur *Myxocystis mrazeki;* C. R. Soc. Biol. Paris, vol. 58.

1899 *Labbé* : Sporozoa. Dans : Das Tierreich; Berlin-Friedländer.

1907 *Leger* et *Hesse* : Sur une nouvelle Myxosporidie parasite de la Sardine; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 145, p. 85.

1908 *Mercier* : Sur le développement et la structure des spores de *Thelohania giardi;* C. R. Ac. Sc. Paris, t. 146, p. 33.

1909 » : Contribut. à l'étude de la sexualité chez les myxosporidies et les microsporidies; Ac. Sc. Belgique. Sciences. Mémoires, série II, t. 2.

(1) On voudra bien excuser les lacunes qui pourraient exister dans la bibliographie, la destruction des ouvrages de fond lors de l'incendie de la Bibliothèque Universitaire et l'impossibilité de recevoir les travaux parus depuis le mois d'août 1914 en sont la cause

1912 *Minchin* : Introduction of the study of the Protozoa; London, Arnold.

1910 *Moroff* : Entwickl. der Nesselzellen bei Anemonia; Arch. f. Zellforsch., t. 4.

1897 *Mrazek* : Ueber eine neue Sporozoenform ans *Limnodrillus;* Sitz. Ber. der Gesel. f. Wiss. Prag.

1910 » : Sporozoenstudien : zur Auffassung der Myxocystiden; Arch. f. Protist., t. 18.

1912 *Ohmori* : *Nosema bombycis;* Arb. kais. Gesundheitsamt, t. 40, p. 108.

1905 *Perez* : Microsporidies parasites des Crabes d'Arcachon; Bull. Stat. Biol. Arcachon, t. 8.

1905 » : Sur une Glugéide nouvelle parasite des *Balanus amaryllis;* C. R. Soc. Biol. Paris, t. 57, p. 150.

1891 *Pfeiffer* : Die Protozoen als Krankheitserreger, 2e édit.

1893 » : Untersuchungen ueber den Krebs, die Zellerkrankungen und die Gewebesbildung der Sporozoen.

1895 *a* » : Die Protozoen als Krankheitserreger. Nachträge I. Corresp. Blätter allg. ärztl. Verein. Thuringen, no 1.

1895 *b* » : Idem. Iena.

1909 *Schröder* : *Thelohania chætogastris;* Arch. f. Protist., t. 14.

1910 *Schuberg* : Microsporidien aus dem Hoden der Barbe; Arb. kais. Gesundheitsamt, t. 33.

1901 *Stempell* : *Pleistophora mülleri;* Zool. Anz., t. 24, p. 157.

1902 » : *Thelohania mülleri;* Zool. Jahrb., t. 16.

1904 » : *Nosema anomalum;* Arch. f. Protist., t. 4.

1909 » : *Nosema bombycis;* Arch. f. Protist., t. 16.

1912 *Swellengrebel* : The life-history of *Pleistophora gigantea;* Parasitology, t. 4.

1914 *Swarczewsky* : Ueber den Lebencyclus einiger Haplosporidien; Arch. f. Protist., t. 33.

1895 *Thélohan* : Recherches sur les Myxosporidies; Bull. Sc. France et Belgique, t. 26.

1891 » : Sur deux protozoaires nouveaux parasites des muscles de poisson; C. R. Ac. Sc. Paris, 1891.

EXPLICATION DES FIGURES.

La combinaison optique (ZEISS), *employée pour les dessins, est l'objectif :* 1,30 *dist. foc.* 1,5 *mm.* × *oculaire compens.* 18 *(grossissement linéaire* 3000); *seuls les dessins* 1, 2, 3, *faits à l'oculaire* 2, *sont au grossissement de* 333, *soit à la réduction au* 1/9 *de l'échelle. La projection est faite au niveau de la platine par le prisme Nachet; une échelle de comparaison, établie au micromètre oculaire de* ZEISS, *se trouve en tête de la planche I.*

La légende de chaque dessin est suivie de l'indication de la méthode employée :

B. = Fixateur de	BOUIN.	H. = Hématoxyline de	HEIDENHAIN.
Z. = »	ZENKER.	G. = Éosine-azur de	GIEMSA.
F. = »	FLEMMING.	Sa. = Safranine de	BABÈS.
S. = Sublimé-alcool.			

PLANCHE I.

Glugea danilewskyi L. Pfr.

FIG. **1.** Partie de tumeur du type I. Limitée par deux faisceaux musculaires; des travées conjonctives et de petits faisceaux musculaires atrophiés traversent la tumeur; les spores et les individus jeunes sont groupés dans des kystes secondaires. S. H.

FIG. **2.** Partie de tumeur du type II Peu d'éléments jeunes; les spores sont réunies dans des kystes secondaires; une épaisse couche de tissu conjonctif, dans lequel sont éparpillés des amas de spores sépare la tumeur des faisceaux musculaires voisins. X. H.

FIG. **3.** Partie de tumeur du type III. Les spores forment une masse compacte; une épaisse couche de tissu conjonctif réactionnel dans laquelle traînent des spores enkyste la tumeur. S. G.

FIG. **4.** Paroi de la tumeur Les kystes secondaires sont séparés par quelques fibres musculaires; au voisinage de la tumeur une assise de protoplasme avec un noyau-hôte, puis une membrane irrégulière très chromatique, enfin à la périphérie le muscle normal. B. H.

FIG. **5**. Amas d'individus jeunes végétatifs au milieu des kystes sporaux. Ils sont à des stades différents, les uns uninucléés, les autres plasmodiaux. B. H.

FIG. **6**. Première et seconde division nucléaire dans des individus végétatifs. S. H.

FIG. **7**. Divisions nucléaires d'un aspect plus diffus. S. H.

FIG. **8**. Idem.

FIG. **9**. Idem.

FIG. **10**. Seconde division nucléaire; deux granules polaires unis par deux filaments légèrement colorables. S. H.

FIG. **11**. Divisions nucléaires ultérieures. S. H.

FIG. **12**. Divisions nucléaires se succédant rapidement sans que les noyaux-filles s'isolent complétement. S. H.

FIG. **13**. Tous les noyaux-filles non individualisés restent groupés dans un espace clair au milieu du protoplasme. F. H.

FIG. **14**. Idem. Un peu plus avancé. S. H.

FIG. **15**. Les noyaux-filles, sans être complétement séparés, se répandent dans le protoplasme. S. H.

FIG. **16**. Individu végétatif au stade plasmodial. B. H.

FIG. **17**. Idem; très nombreux noyaux situés à la périphérie. F. H.

FIG. **18**. Plasmodie peut-être en voie de cloisonnement. Les divisions nucléaires montrent l'existence de deux granules polaires réunis entre eux par un filament peu colorable. B H.

FIG. **19**. Plasmodie; les noyaux sont entourés d'une aréole claire; ils montrent une ébauche de division qui permet de constater les mêmes particularités que celles signalées dans la fig. précédente B. H.

FIG. **20**. Plasmodie; les noyaux sont entourés d'une aréole claire et plus ou moins dédoublés. B. H.

FIG. **21**. Idem.

FIG. **22**. Par résolution de la plasmodie les copulæ autogamiques s'individualisent dans le kyste secondaire. Les noyaux montrent nettement des ébauches de division. B. H.

FIG. **23**. Idem

FIG. **24.** Une copula isolée à noyau double. B H

FIG. **25.** Idem.

FIG. **26.** Copulæ individualisées dans le kyste secondaire; noyaux parfois à ébauche de division, parfois assez volumineux, diffus, à limites vagues. B. H.

FIG. **27.** Idem.

FIG. **28.** Idem. Une division nucléaire de type énigmatique. B. H.

FIG. **29.** Copulæ dans le kyste secondaire. L'une d'elles subit la division sporoblastique. B. H.

FIG. **30.** Copulæ et divisions sporoblastiques à des stades différents B. H.

FIG. **31.** Divisions sporoblastiques. S. H.

FIG. **32.** Idem plus avancées. B. H.

FIG. **33.** Individualisation des sporoblastes. B. H.

FIG. **34.** Sporoblastes jeunes; une copula existe probablement encore au milieu d'eux. B. H.

FIG. **35** Sporoblastes jeunes S. H.

FIG. **36.** Sporoblaste jeune; sa dimension fait croire qu'il donnera une grande spore. Stade énigmatique. B. H.

FIG. **37.** Idem.

FIG. **38.** Idem.

FIG. **39.** Sporoblastes jeunes, première ébauche de la structure des spores. B. H.

FIG. **40.** Spores mures. S H.

FIG. **41.** Transformation du sporoblaste en spore. B. H.

FIG. **42.** Idem.

FIG. **43.** Idem.

FIG. **44.** Idem. S. H.

FIG. **45.** Spore. S. H.

FIG. **46.** Idem.

FIG. **47.** Idem. B. H.

FIG. **48.** Idem. B. H.

FIG. **49.** Spore volumineuse en formation. B. H.

FIG. **50.** Spore volumineuse. B. H.

FIG. **51**. Retour aux stades végétatifs : formation de plasmodies aux dépens de la copula. Ce dessin fait suite aux dessins 30, 31. F. H.

FIG. **52**. Idem. B. H.

FIG. **53**. Idem, plus avancé. F. H.

PLANCHE II.

Glugea mülleri L. Pfr.

FIG. **54**. Individus végétatifs jeunes à différents stades d'évolution. B. H.

FIG. **55**. Premières et secondes divisions nucléaires; existence de granules polaires. S. H.

FIG. **56**. Individu végétatif à grand noyau. B. H.

FIG. **57**. Idem. Nombreuses enclaves protoplasmiques périnucléaires. B. H.

FIG. **58**. Restauration de deux noyaux après la première division. B. H. Sa.

FIG. **59**. Individus végétatifs, noyaux de dimensions variables. B. H. Sa.

FIG. **60**. Plasmodie avec divisions nucléaires; deux granules chromatiques en chaque pôle et filament unissant. S. H.

FIG. **61**. Idem.

FIG. **62**. Début du cloisonnement de la plasmodie. S. H.

FIG. **63**. Idem; ébauche de division nucléaire. B. H.

FIG. **64**. Idem.

FIG. **65**. Les copulæ autogamiques sont individualisées; le dédoublement nucléaire est nettement visible. B. H.

FIG. **66**. Idem.

FIG. **67**. Idem. L'une des copula montre le début de la division sporoblastique. S. H.

FIG. **68**. Division sporoblastique. B. H.

FIG. **69**. Idem. B. H. Sa.

FIG. **70**. Idem. B. H. Sa.

FIG. **71**. Idem. Télophase. B. H.

FIG. **72**. Isolement des sporoblastes. B. H.

FIG. **73.** Sporoblastes isolés, noyaux vagues. B. H. Sa.

FIG. **74.** Formation des spores. Le granule antérieur est coloré en rouge réfringent. B. H. Sa.

FIG. **75.** Idem.

FIG **76.** Idem.

FIG. **77.** Idem Même coloration du granule antérieur. S G.

FIG. **78.** Idem. Le granule antérieur franchement rose, le noyau postérieur à peine rose, tout le reste bleu. S. G.

FIG. **79** Formation de spore. B H. Sa.

FIG. **80**. Spore. B. H.

FIG. **81**. Spore. B. H. Sa.

FIG. **82**. Spore B. H. Sa.

FIG. **83**. Spore. B. H. Sa.

FIG. **84**. Spore. B. H. Sa

FIG. **85**. Retour aux stades végétatifs; formation de plasmodies aux dépens des copulæ. Ce dessin fait suite aux dessins 68, 69. B. H.

FIG. **86**. Idem. S. H.

Glugea danilewskyi L. Pfr.

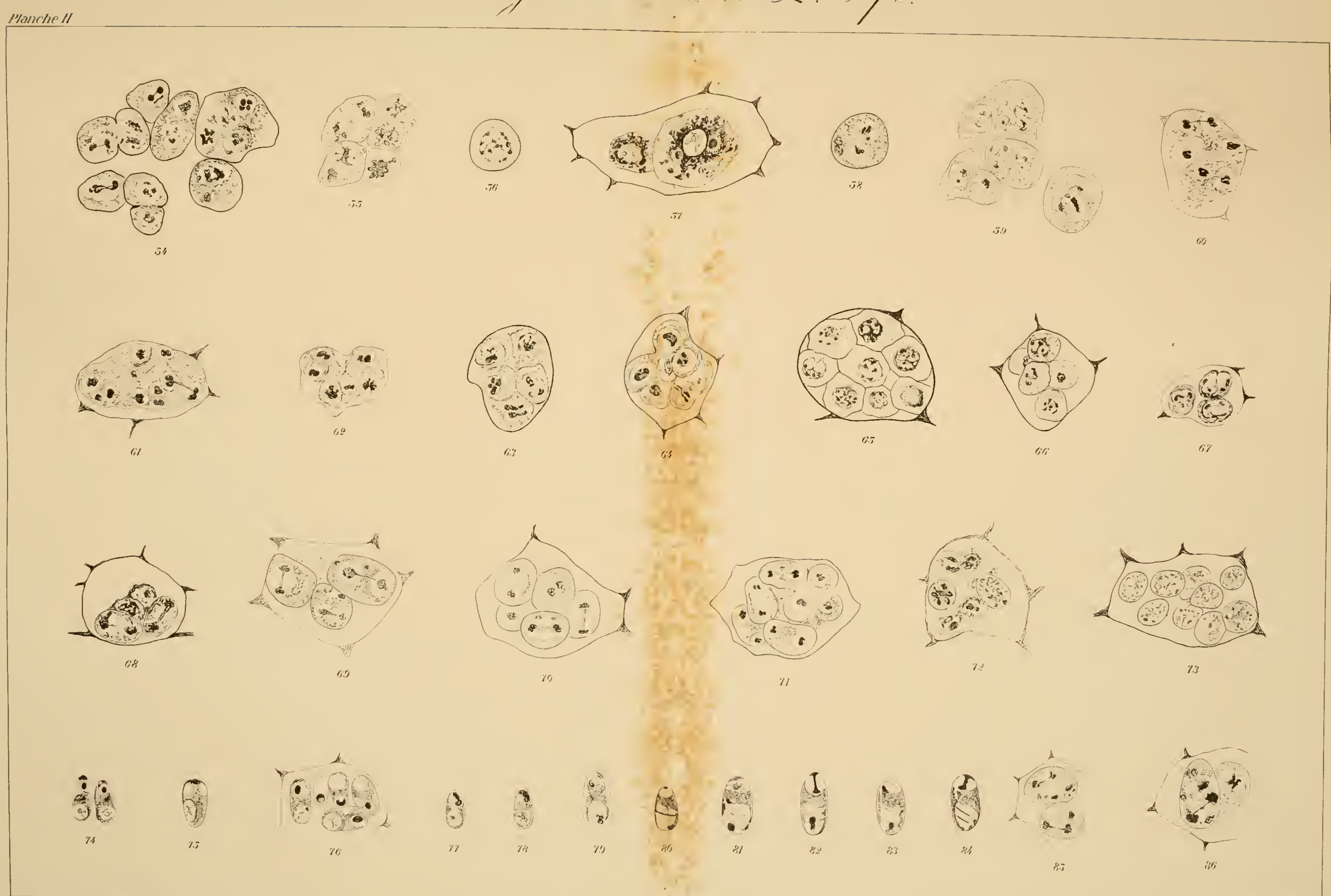
Planche I.



F. Debaisieux ad nat. del.

Planche II

Glugea mülleri L. Pfr.



P. Debaisieux ad nat. del.

Les Microsporidies parasites des larves de Simulium

II

PAR

Paul DEBAISIEUX, et Louis GASTALDI,

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ, LOUVAIN.

ÉTUDIANT EN MÉDECINE, MONTÉVIDEO (URUGUAY).

(Mémoire déposé le 25 décembre 1915.)

Les Microsporidies parasites des larves de Simulium

II

INTRODUCTION.

La larve de *Simulium* paraît être un hôte de choix pour les protozoaires parasites; les études qui en furent faites sont relativement nombreuses.

Des microsporidies y furent découvertes par Léger (97) et baptisées par lui *Glugea varians*. Elles furent ensuite étudiées à trois reprises par Lutz et Splendore (03, 04, 08), qui les désignèrent d'abord comme *Thélohania sp. ind.*, puis plus tard comme *Nosema simulii*, espèce possédant quatre formes distinctes : α, β, γ et δ.

L'un de nous (13) publia également un travail sur ces microsporidies. Dans cette étude une espèce était décrite à part; les autres, réunies sous la dénomination de *Thélohania varians*, étaient considérées provisoirement comme appartenant à une même espèce. « Nous avons eu parfois, écrivions-nous alors, beaucoup de peine à coordonner les variantes et à les rapprocher d'un même type » (p. 48), et ailleurs : « le cycle général et bien des stades sont analogues, et les variantes qui les distinguent ne sont pas assez importantes pour justifier *actuellement* la création d'une espèce nouvelle » (p. 51).

Un travail de Strickland (11) traite succinctement de ces mêmes parasites et dans un mémoire ultérieur (13) il décrit dans les larves de *Simulium* américains trois espèces distinctes de microsporidies qu'il appelle *Glugea multispora*, *bracteata* et *fibrata*, plus un parasite énigmatique, qu'il croit être une grégarine.

Nous n'eûmes malheureusement connaissance du mémoire qu'assez tardivement, après la publication de notre précédent travail; nous résolûmes dès lors de reprendre l'étude de nos préparations en tenant compte des idées de Strickland. Le travail fut différé de mois en mois, et le 26 août

1914, lors de l'incendie de la ville de Louvain, tout notre matériel fut détruit par le feu.

Nous avons récolté de nouveaux matériaux et avons eu la chance d'en trouver en très grande quantité; leur étude nous a conduits à conclure à l'existence d'*au moins* quatre espèces différentes de microsporidies.

Le parasite énigmatique décrit par Strickland fut également retrouvé; il est à rapprocher du genre *Polycaryum* (Stempell, 03). Son étude détaillée fera l'objet d'une note spéciale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

La récolte des larves fut faite dans un ruisseau des environs de Louvain durant tout l'hiver (janvier à mars) et tout l'automne (octobre à décembre) 1915. Ces larves proviennent de la même localité que celles que nous avons antérieurement étudiées (13); la détermination de l'adulte, qui fut aimablement faite au Musée de Bruxelles, a conduit à les dénommer *Melusina* (*Simulium*) *maculata*. Meig., mais encore une fois cette détermination n'est que probable, car, comme le fait remarquer Grünberg (10), il existe de nombreuses espèces insuffisamment connues ou douteuses.

Des centaines de larves furent étudiées sur le vivant; et plus de trois cents individus parasités furent fixés et débités en coupes.

Les fixateurs employés furent le Bouin, le Zenker, le Brasil (picro-formol-acétique alcoolique), le sublimé-alcool et le Benda. Les trois premiers nous ont donné les meilleurs résultats.

Comme colorants nous avons surtout employé l'hématoxyline au fer de Heidenhain suivie de coloration protoplasmique au rouge Congo. Le Borrel, le Delafield et le Giemsa ne furent utilisés que comme procédés de comparaison.

Le présent travail n'est en somme que le complément d'un mémoire antérieur; ce fait nous permettra de traiter assez sommairement des questions déjà approfondies. Par le fait qu'il fut possible de dissocier des espèces, l'interprétation des stades observés est devenue plus aisée et plus simple; grâce à l'abondance des matériaux, il est possible de compléter les observations antérieures; quelques-unes doivent être infirmées.

Dans une première partie nous décrirons en détail et séparément les quatre espèces observées;

dans un second chapitre nous discuterons leur rang systématique et justifierons les noms que nous leur attribuons;

dans un troisième chapitre nous discuterons et analyserons les notions générales qui ressortent de l'étude particulière.

I. PARTIE DESCRIPTIVE.

I. Thélohania multispora Strick

a) Aspect général.

Les tumeurs sont multiples et régulières. Dans un cas d'infection relativement jeune, les divers stades d'évolution du parasite sont disposés avec ordre dans chaque tumeur; les plus jeunes à la périphérie, puis une assise de sporoblastes réunis par 100 ou 200 en amas sphériques enfin au centre des spores isolées. Dans un autre cas, où l'infection paraît cependant plus avancée, on ne rencontre pas de spores libres; même mûres, elles restent groupées en petits amas; il n'y a pas d'assises distinctes dans la tumeur. L'aspect général correspond en ce cas à celui représenté par Strickland (13) dans sa figure 2, planche 4.

Les noyaux-hôtes, quand ils existent dans la tumeur, sont très rares et assez volumineux; une couche différenciée en membrane sépare la tumeur des tissus voisins, fig. 1.

Ce parasite est très rare : nous ne l'avons rencontré que dans deux cas d'infection.

b) Évolution.

1. *Multiplication végétative.* On rencontre parfois des parasites uninucléés. Les divisions nucléaires qu'on y observe fig. 2, 3, montrent nettement l'existence dans le noyau de deux masses chromatiques distinctes; on les retrouve à la télophase, séparées l'une de l'autre; il existe deux filaments unissants, qui persistent assez longtemps entre les deux noyaux-filles.

Les stades jeunes se présentent plus souvent sous la forme plasmodiale, fig. 1, 4. Dans les noyaux au repos peu chromatiques, il y a souvent de fins granules réunis deux à deux en haltère; fréquemment il y en a deux situés aux pôles du noyau; leur présence semble annoncer une division imminente, durant laquelle ils joueront le rôle de corpuscules directeurs. Les divisions nucléaires dans la plasmodie, fig. 5, sont analogues à celles observées dans les individus uninucléés.

Parfois les divisions nucléaires sont en apparence plus compliquées, FIG. 6. Dans les noyaux-filles on voit nettement un dédoublement; ils paraissent constituer un véritable diplocaryon; durant la division elle-même, il semble que deux noyaux se divisent simultanément et parallèlement. Nous verrons dans d'autres espèces des exemples plus démonstratifs de ce phénomène, FIG. 66 à 77; il doit y être interprété comme division de diplocaryon donnant deux diplocarya-filles. On peut se demander s'il existe une différence essentielle entre les divisions nucléaires relativement simples, FIG. 2, 3, 5, et celles, plus compliquées, qui paraissent doubles. En effet, dans les premières divisions il existe nettement un dédoublement des deux noyaux-filles en deux masses chromatiques élémentaires et il y a deux filaments axiaux; il existe de plus des stades de transition entre les deux types extrêmes de division, qui parfois paraissent coexister dans une même plasmodie, FIG. 5, 6, et enfin dans certaines espèces, notamment dans le *Plistophora simulii*, on observe presque toujours, si pas exclusivement, des divisions de diplocarya.

2. *Formation des zygotes.* Après un nombre variable de divisions nucléaires, tous les noyaux de la plasmodie se disposent à la périphérie de celle-ci et ses contours deviennent irréguliers; un cloisonnement, commençant par la périphérie, isole de petites plages protoplasmiques uninucléées, FIG. 7. Les noyaux se développent, puis se dédoublent; les deux moitiés restent accolées, FIG. 8, ou se séparent plus ou moins en deux croissants à sommets convergeant deux à deux, FIG. 7, 9. L'examen de nos dessins et l'étude des préparations montrent qu'il existe bien ici un dédoublement nucléaire et pas un accolement de deux noyaux plasmodiaux (SWARSZEWSKY, 14). Nous verrons plus loin que ce fait n'est pas toujours aussi clair et que l'interprétation des préparations peut prêter à discussion. Dans le cas présent on est conduit à admettre le dédoublement nucléaire, et le diplocaryon, dont nous allons étudier l'achèvement, est dès lors autogamique au premier degré (Autogamie pædogamique d'après HARTMANN, 09).

Le cloisonnement de la plasmodie s'accentue, FIG. 9-12; dans le protoplasme apparaissent des traînées plus denses d'abord, puis plus colorables, et bientôt tellement électives pour la coloration à l'hématoxyline que la différentiation est très laborieuse. Les noyaux dédoublés s'accroissent, FIG. 10, les moitiés constituantes restent bien isolées; d'abord très denses, elles se développent et deviennent nettement filamentaires

Au stade suivant on voit les deux moitiés du diplocaryon se fusionner en un seul noyau, FIG. 13. L'individu à ce stade doit être considéré comme un zygote à noyau formé de filaments entremêlés.

3. *Sporogonie.* Les zygotes restent unis en petits amas noyés dans une masse très chromatophile née par différentiation du protoplasme. Ils évoluent synchroniquement, mais indépendamment les uns des autres, et donnent naissance à des sporoblastes. Les divisions nucléaires successives montrent un aspect tout particulier que nous n'avons rencontré que dans cette seule espèce, FIG. 14. Il existe une figure achromatique très nette, qui rappelle un fuseau. Elle est généralement formée de quatre filaments, qui convergent aux pôles, où ils apparaissent un peu plus épais et où existent parfois deux centres d'attraction FIG. 14. Les éléments chromatiques sont répartis en nombreux granules; leur nombre est difficile à préciser; à la plaque équatoriale, il y en a environ huit; lorsqu'ils s'éparpillent durant l'anaphase, on en compte jusqu'à dix-huit. A la télophase, FIG. 15, les amas polaires sont formés par les granules chromatiques assez régulièrement disposés au nombre de huit ou neuf.

A la seconde division nucléaire, le nombre des granules paraît subir une réduction; on en compte environ huit à la plaque équatoriale, et jamais plus de dix durant l'anaphase et la télophase.

Il ne nous fut pas possible d'établir avec certitude quel est le nombre de spores qui naissent aux dépens de chaque zygote. Il existe certainement deux divisions nucléaires successives; à en juger par leurs dimensions et par la dimension des sporoblastes, il en existe très probablement trois; nous ne croyons pas qu'il en existe davantage; le nombre des sporoblastes dans chaque amas comparé au nombre de zygotes, justifie cette opinion.

Nous estimons donc qu'il naît 8 spores aux dépens de chaque zygote; c'est pourquoi comme nous le verrons plus loin, cette espèce doit être considérée comme une *Thélohania*.

Les sporoblastes provenus de plusieurs sporontes restent accolés et groupés en amas sphériques, FIG. 17. La forte chromaticité de la substance qui les entoure ne permet pas de suivre leur évolution. Parfois on distingue un assez gros noyau à l'une de leurs extrémités.

Tandis que les sporoblastes se transforment en spores, la substance chromatique interstitielle disparaît, employée sans doute à la formation des membranes sporales. Les spores peuvent s'isoler complètement ou

rester groupées en amas ; leurs dimensions approximatives sont 4—5×3μ. Nous n'avons pas observé de macrospores.

2. Thélohania fibrata Strick

a) Aspect général.

Les tumeurs, uniques ou multiples, sont à contours irréguliers et envoient des prolongements de toute forme entre les divers organes de l'hôte. Il n'existe aucune régularité dans la disposition des divers stades du parasite ; ils sont complétement entremêlés. Les spores jeunes restent parfois groupées en petits amas de huit, mais les spores mûres sont indépendantes les unes des autres et disséminées dans toute la tumeur. Dans les préparations fixées les spores, spécialement rebelles à l'action de tous les réactifs, sont toutes ou presque toutes déformées, incolores, réfringentes ; cet aspect des spores caractérise à première vue les tumeurs formées par cette espèce et augmente l'apparence de désordre qu'on y observe, fig 19.

Il ne semble pas y avoir de membrane enkystante autour de la tumeur ; sur préparation, un simple trait, analogue à une limite de cellule quelconque, la sépare des tissus sains.

Les noyaux-hôtes englobés dans la tumeur sont relativement peu nombreux, par comparaison avec leur excessive abondance dans le *Plistophora simulii*. - Ces noyaux sont volumineux et généralement analogues à ceux que nous rencontrerons dans le *Th. bracteata* fig. 40. Mais parfois ils présentent un aspect tout spécial fig. 19 ; ils contiennent des chromosomes formés de disques empilés ; dans ce cas particulier, il est aisé d'établir leur origine avec certitude ; ils proviennent des glandes salivaires, mais sont parfois fortement hypertrophiés et peuvent atteindre 170 μ.

b) Évolution.

1. *Multiplication végétative.* Les plasmodies à noyaux simples sont rares, fig. 20. Les noyaux dans ce cas sont assez grands et montrent un réseau chromatique diffus ; ils se rencontrent rarement en voie de division. Par contre les individus végétatifs mononucléés ou paucinucléés, fig. 21, 22, à noyaux doubles, sont très fréquents. Leur forme très variable généralement étirée, fig. 21, indique la division du protoplasme.

L'origine des noyaux doubles est difficile à établir ; certains aspects conduisent à admettre un dédoublement des noyaux simples fig. 21, 22 ;

mais d'autres aspects très nombreux font croire à l'accolement de deux noyaux de la plasmodie, FIG. 21[x]. Dans l'une et l'autre hypothèse, on se trouve en présence d'une autogamie par pædogamie; mais est-elle du premier degré ou bien, les noyaux plasmodiaux étant peu nombreux, du second ou du troisième degré? La question nous parait insoluble, tant le rôle joué par l'interprétation est ici important. On pourrait soutenir l'une ou l'autre hypothèse; peut-être les deux sont-elles vraies.

Les divisions nucléaires que l'on observe dans les individus végétatifs sont généralement assez compliquées, FIG. **24**, **25**; elles doivent être interprétées comme divisions doubles évoluant simultanément dans deux noyaux accolés.

2. *Formation des zygotes.* Elle est analogue à celle qui existe dans le *Thélohania multispora*, mais s'en distingue par le fait que les individus à noyau double ne se transforment que lorsqu'ils sont isolés FIG. **26**, **27**. Chaque diplocaryon évolue alors individualisé; le zygote est plus volumineux que dans l'espèce précédente.

3. *Sporogonie.* La première division sporogoniale a lieu suivant un type beaucoup moins parfait que celui décrit dans le *Th. multispora*. On observe une simple condensation aux pôles des filaments nucléaires du zygote, FIG. **29**. La seconde division suit immédiatement la première, FIG. **30**; parfois on y remarque l'existence de deux granules polaires unis par un filament achromatique, FIG. **31**; lors de l'isolement des noyaux-filles, ce filament persiste assez longtemps, FIG. **32**. La troisième et dernière division, FIG. **33**, est plus parfaite que celles qui la précèdent, et il existe parfois des aspects qui rappellent ceux observés dans la première espèce étudiée.

Le protoplasme du sporonte jeune est de structure alvéolaire uniforme, FIG. **29**, **30**; quand les noyaux-filles s'isolent, il persiste une plage alvéolaire autour de chacun d'eux, mais les autres portions protoplasmiques du sporonte deviennent plus denses, de structure homogène, FIG. **32**–**34**. Dans nos préparations, ce protoplasme modifié se caractérise par le fait qu'après une différentiation convenable il fixe fortement le rouge Congo. Cette particularité permet de reconnaitre aisément les stades de sporogonie des stades végétatifs qui ne fixent que l'hématoxyline.

Le nombre de sporoblastes nés dans chaque sporonte est égal à huit; il peut exister de légères variations de nombre, il ne s'écarte jamais beau-

coup de la valeur moyenne de huit. Les sporoblastes s'individualisent par formation d'une membrane propre autour de chacun d'eux, FIG. 35. Il existe un noyau unique dans chaque sporoblaste; la formation des spores est impossible à suivre, l'altération des stades de sporogonie par les réactifs étant excessive. L'existence de la membrane du sporonte est assez éphémère. Plus que dans aucune autre espèce la dimension des spores varie, FIG. 36, 37; elles mesurent en moyenne $7 \times 3.5\mu$; les macrospores sont très nombreuses.

4. *Retour aux stades végétatifs.* Les sporoblastes peuvent se transformer en stades végétatifs, sur place, sans qu'il y ait changement d'hôte. Les FIG. 38 et 39 représentent des aspects du parasite que l'on rencontre souvent. L'existence à l'intérieur de la membrane d'une substance amorphe réagissant aux colorants comme la substance interstitielle des sporontes indique que les parasites à ce stade dérivent du zygote. D'autre part les individus contenus dans la membrane ne peuvent être des sporoblastes; ils sont trop grands pour donner des spores ordinaires; ils sont trop nombreux et à contours trop irréguliers pour donner des macrospores; nous croyons qu'après libération et par division nucléaire ils régénèrent les stades initiaux, plasmodiaux ou à noyau double. Cette façon de voir rend compte de l'irrégularité dans la disposition de tous les stades parasitaires, de leur mélange à l'intérieur de la tumeur.

3. Thelohania bracteata STRICK.

a) Aspect général.

Les tumeurs sont à contours assez irréguliers. La disposition des divers stades parasitaires à l'intérieur de la tumeur est parfois irrégulière, sans ordre; d'autres fois il existe au centre une masse compacte de spores isolées. L'aspect de la préparation rappelle alors celui reproduit par STRICKLAND (13) dans son dessin 2, planche 2.

Parfois les spores sont disposées en petits ilots isolés étoilés, formés de huit spores. Les spores sont très régulières, subsphériques; elles ne sont guère déformées par les réactifs et intensément colorables. Il existe des macrospores peu nombreuses.

Il n'y a pas de véritable membrane enkystante autour de la tumeur. Les noyaux sont entremêlés aux parasites et se présentent sous deux aspects assez différents. Parfois ils sont relativement nombreux, et par analogie on

peut les identifier comme étant des noyaux de cellules graisseuses, mais hypertrophiés, pouvant atteindre dix fois le volume normal; dans quelques préparations où la tumeur est métastatique, il existe de petits amas parasitaires à l'intérieur de cellules graisseuses. D'autres fois on voit dans la tumeur de très grandes fentes ou des lacunes, remplies de granulations chromatiques et de quelques filaments; elles contiennent une ou plusieurs sphères chromatiques nucléolaires.

La FIG. 40 représente une de ces lacunes choisie parmi les plus petites; il faut les considérer comme des noyaux-hôtes considérablement hypertrophiés et altérés, mais il est difficile de les identifier; ils offrent certaines analogies avec les noyaux musculaires qui, normalement assez volumineux, plongent dans une masse de protoplasme très lâche et non différenciée, accolée aux fibrilles musculaires.

b) Évolution.

L'évolution de cette espèce présente de grandes analogies avec celle des deux espèces précédentes; qu'il nous suffise de noter quelques particularités.

Tous les stades de l'évolution sont beaucoup plus petits que dans le *Th. fibrata*.

Les plasmodies végétatives, FIG. 41, sont excessivement rares dans nos préparations; par contre la résolution en diplocarya, FIG. 42, 43, 46, est fréquente. Il est possible que les sporontes plurinucléés puissent régénérer des stades végétatifs comme cela s'observe dans l'espèce précédente; cela expliquerait l'abondance des aspects représentés FIG. 43 et 46.

Quand le zygote est formé par fusion des deux noyaux constituants, une différentiation protoplasmique analogue à celle déjà observée plus haut, a lieu; dans cette espèce elle débute par l'apparition de gros granules chromatiques périphériques, FIG. 48, 49. Les divisions nucléaires sporogoniales sont très simples, FIG. 49–54, et on observe très nettement, à la télophase, que les noyaux-filles sont formés de deux amas chromatiques élémentaires et unis par deux filaments achromatiques, FIG. 50, 54.

Les sporoblastes naissent au nombre de huit dans chaque sporonte, FIG. 56 57; ils contiennent un noyau unique à côté duquel apparaît un granule chromatique très net, FIG. 57. Les sporoblastes se transforment en spores; quand elles sont mûres, elles possèdent une membrane épaisse, résistante; elles sont subsphériques et mesurent 3 -4×2,5—3 μ. Leur struc-

ture interne est parfois visible; elles possèdent deux vacuoles terminales séparées par un disque protoplasmique lenticulaire, FIG. 58. Dans la vacuole antérieure existent deux granules reliés en haltère par une tigelle; dans la vacuole postérieure, on devine le filament spirale, qui paraît court, à un tour de spire.

Il existe des macrospores peu nombreuses, FIG. 59, 60.

4. **Plistophora simulii** L. et SPL.

Cette espèce est très variable. Elle se présente sous différentes formes bien définies; nous avons été tentés d'établir pour elles des espèces distinctes, mais outre que cette « systématisation » à outrance est sans portée au point de vue de l'étude que nous poursuivons — étude du cycle et étude cytologique, — la subdivision en espèces distinctes paraît inopportune. Il existe en effet entre les formes définies des formes de transition difficiles à ranger dans l'une ou l'autre catégorie, et les différences entre elles ne portent pas toujours sur des caractères assez importants pour justifier leur disjonction spécifique. La différence spécifique étant cependant possible, nous ne voulons pas décrire simultanément toutes les formes; nous en distinguerons trois principales, faisant abstraction des formes douteuses ou intermédiaires.

LUTZ et SPLENDORE (04, 08) ont décrit deux formes du *Nosema simulii* type *Plistophora*. Ils les désignent comme forme α et forme β. La description qu'ils en donnent ne nous permet pas de les identifier avec certitude à celles que nous observons; nous désignerons donc ces dernières comme formes γ, δ et ε.

FORME γ.

a) Aspect général.

Les tumeurs, uniques ou multiples, sont arrondies, régulières, parfois lobées. mais à lobes plus ou moins pédonculés et arrondis. A leur intérieur les divers stades du parasite sont disposés avec une très grande régularité, FIG. 61 : à la périphérie, des stades jeunes, puis une assise concentrique de zygotes et de sporontes, puis une assise de sporoblastes et de spores groupées en amas de 20 ou 30, enfin au centre une accumulation considérable de spores mûres indépendantes. La figure 3, pl. 2, de STRICKLAND (13) reproduit à s'y méprendre l'aspect de la forme étudiée ici. — Dans des cas de très forte infection on trouve, à côté des tumeurs régulières, des amas irréguliers de parasites disposés sans ordre et envahissant des tissus divers.

La tumeur est parfois limitée par une membrane bien définie, FIG. 63; d'autres fois par une simple paroi comme dans le *Th. fibrata*; d'autres fois elle n'est pas limitée du tissu sain en général adipeux, FIG. 62×. On observe même quelquefois des spores mûres ou des sporoblastes en petit nombre à l'intérieur des cellules graisseuses.

Dans toute la masse de la tumeur, mais surtout à la périphérie, existent des noyaux un peu plus grands que les parasites eux-mêmes; ils sont excessivement nombreux assez réguliers et à gros nucléole, FIG. 61, 63; parfois, mais rarement, ils sont en cinèse (analogue à la FIG. 103). Ces noyaux sont certainement des noyaux-hôtes (nous reviendrons plus tard sur cette affirmation) et très probablement des noyaux de cellules graisseuses.

b) Évolution.

I. *Multiplication végétative.* Les stades plasmodiaux sont excessivement rares, si tant est qu'ils existent, dans les tumeurs en pleine évolution.

La FIG. 62 représente le seul aspect plasmodial que nous avons observé dans toutes les préparations des différentes formes de cette espèce; et c'est celle dont nous avons rencontré le plus grand nombre d'exemplaires. Cette plasmodie est située à la limite de la tumeur, là où anormalement du tissu sain est en voie d'envahissement. — La FIG. 63× représente un stade assez énigmatique, peut-être plasmodial, rencontré dans une tumeur de forme intermédiaire peu définie.

Tous les autres stades jeunes et ils existent par milliers à la périphérie de la tumeur, sont uninucléés; le noyau est presque toujours double, FIG. 61, 64, 78. Quelle est l'origine de ces diplocaria? Par l'étude de cette forme nous n'avons pu nous en faire aucune idée.

Les individus uninucléés à noyau simple se divisent-ils pour donner deux individus uninucléés? Nous n'en avons pas trouvé la preuve. Des aspects comme ceux de la FIG. 66*a* pourraient le faire croire, mais il est plus probable qu'ils représentent, vus de côté, une division analogue à celle de la FIG. 66*b*. Des aspects comme celui de la FIG. 65 peuvent représenter aussi bien un dédoublement du noyau simple qu'une division de ce noyau préludant à la division du protoplasme; ils sont d'ailleurs assez vagues.

Les divisions de noyaux doubles sont par contre excessivement fréquentes, FIG. 66—77. Les deux moitiés se divisent parallèlement et généralement elles sont indépendantes l'une de l'autre; dans chacune il existe un filament axial — peut-être est-il double; et lors de la télophase il est aisé

de se rendre compte que chaque moitié est formée de deux masses chromatiques élémentaires, FIG. 66, 68, 69.

L'aspect de ces divisions est assez variable; très souvent il arrive que durant l'anaphase il y a torsion à 180° de l'axe de division, ce qui amène le croisement des filaments axiaux ou des travées chromatiques, FIG. 73—75; il arrive aussi que les filaments axiaux paraissent se fusionner en leur portion médiane, FIG. 72. A la télophase les amas polaires sont formés de diplocarya-filles, FIG. 75 77, et dès que la membrane nucléaire apparaît, le protoplasme se segmente, FIG. 77.

Il est impossible de trancher avec certitude la question de savoir si chaque diplocaryon se divise une ou plusieurs fois, suivant le processus que nous venons de décrire. Étant donné qu'il existe un nombre énorme de diplocarya et que nous n'observons leur formation que par des divisions de type double, étant donné que ces divisions elles-mêmes sont nombreuses, nous sommes conduits à croire à des divisions répétées d'un même diplocaryon.

2. *Formation du zygote.* Un diplocaryon en apparence semblable à tous les autres, mais généralement situé à quelque distance à l'intérieur de la tumeur, se transforme en zygote. Le noyau formé de deux masses chromatiques très denses possédant peut-être un corpuscule central, FIG. 78, se développe. Tandis qu'il s'accroît, sa structure filamentaire devient de plus en plus apparente, FIG. 79, 80 (HESSE, 04). Les deux moitiés constituantes, d'abord accolées se fusionnent complétement et le zygote est formé, FIG. 81, 82. Dans le zygote on observe fréquemment des aspects synaptiques (SWARCZEWSKY, 14, fig. 26 et 27); n'ayant pu écarter l'idée de la participation des réactifs à leur production, nous ne voulons pas insister sur ces stades.

3. *Sporogonie.* La première division sporogoniale est annoncée par le fait que les éléments chromatiques du zygote s'orientent plus ou moins régulièrement et qu'au milieu d'eux apparait une travée axiale qui s'étire prématurément et semble servir de guide aux éléments chromatiques, FIG. 83. Ce ou ces filaments axiaux se reconnaissent aisément dans quelques préparations spécialement bien différentiées; les filaments décolorés fixent le rouge Congo et apparaissent très nettement au milieu des éléments chromatiques colorés par l'hématoxyline.

En coupe transversale ces derniers rayonnent autour de la travée axiale,

FIG. **84** (dessinée d'après la forme δ). Au cours de l'évolution de la mitose, la travée axiale apparait nettement formée de deux filaments, FIG. **85, 86**, souvent ils supportent chacun un granule chromatique, FIG. **87**.

Les divisions sporogoniales se succèdent en nombre variable, FIG. **90, 91**; il se forme 20 à 30 sporoblastes, puis ceux-ci, plus ou moins groupés en rosace, FIG. **92, 93**, se transforment en spores.

Chaque sporoblaste possède un gros noyau, FIG. **93**; bientôt à côté de lui apparait dans le protoplasme un granule légèrement chromatique, FIG. **94**; son origine nucléaire n'est pas prouvée.

Autour de ce granule, qui s'accroit un peu, naît une grande vacuole que nous considérons comme antérieure, FIG. **95, 96** A ce moment apparaît une vacuole postérieure, FIG. **95**, qui entoure parfois un prolongement protoplasmique axial, FIG **96**. Le protoplasme se condense dans la partie médiane de la spore en un disque biconcave, FIG. **97 100**; il devient très chromatophile. Le granule antérieur se développe en haltère, FIG. **99, 100**, donnant probablement un appareil d'éclatement; dans la vacuole postérieure apparait le filament spiralé, FIG. **98–100** (SCHUBERG, 10). A part ce détail, la formation des spores dans le *Plistophora simulii* concorde absolument avec celle que nous avons décrite chez le *Glugea mülleri* et chez le *G. danilewskyi* (DEBAISIEUX, 15).

Nous ne reviendrons pas ici sur la discussion de ce processus, que nous avons étudié en détail à propos de ces espèces.

Les spores mesurent en moyenne 6–8×3,5–5 μ. Il existe des macrospores.

La FIG. **101** représente un aspect d'interprétation douteuse que nous envisageons comme étant une régénération, par le sporonte divisé en sporoblastes, des stades initiaux à diplocaryon. Si cette interprétation est exacte, elle conduit à conclure à la formation du diplocaryon par segmentation d'un seul noyau primitif.

FORME δ.

a) Aspect général.

Cette forme, dans les cas fréquents où son type est bien défini, se présente sous un aspect qui permet de la reconnaitre à première vue de la forme γ. Là où les tumeurs sont régulières, arrondies, les divers stades du parasite sont disposés avec ordre, mais pas en zones concentriques régulières. Les stades jeunes sont groupés en cônes, dont les bases sont appliquées à la

paroi de la tumeur. Dans ces cônes les stades les plus jeunes sont périphériques, les plus avancés sont centraux; tout le centre de la tumeur est occupé par des spores mûres et il existe des traînées de spores qui séparent les cônes et s'étendent jusqu'à la paroi, FIG. **102**.

Les stades de diplocaryon sont plus grands que dans la forme précédente et les deux noyaux sont plus diffus, FIG. **103—107**. Les stades de formation du zygote et les divisions sporogoniales sont également plus grands que dans la forme γ.

Les noyaux-hôtes, probablement graisseux, sont très nombreux, mais plus irréguliers et plus volumineux que dans la forme précédente; ils possèdent très souvent trois et quatre sphérules chromatiques nucléolaires.

Les aspects de cinèse sont assez fréquents, FIG. **103**.

b) Évolution.

L'évolution générale est analogue à celle de la forme γ

Le stade diplocaryon est très fréquent; les noyaux sont plus grands, moins intensivement colorables et moins compacts que dans la forme précédente.

Parfois on est conduit à croire que les deux noyaux du diplocaryon proviennent de la segmentation d'un noyau unique, FIG. **104—106**; voyez également les fig. 115 - 119, DEBAISIEUX (13). Des aspects comme ceux de la FIG. **105** paraissent spécialement probants; dans chaque « demi-noyau », il existe un grumeau chromatique et les deux sont plus ou moins reliés l'un à l'autre par une travée plus colorable. L'examen attentif des préparations ne permet cependant pas d'affirmer l'exactitude de cette façon de voir; il existe tant de stades d'interprétation douteuse que l'on est amené à douter; il existe même des aspects où l'accolement de deux noyaux provenant d'individus mononucléés paraît probable. Il n'y aurait plus dans ce cas d'autogamie, à quelque degré que ce soit.

Bref, il nous paraît impossible de trancher la question de savoir si le diplocaryon est toujours autogamique ou non.

La formation des spores aux dépens des sporoblastes, FIG. **108 - 114**, est analogue à celle décrite plus haut. Parfois l'existence d'un canalicule excentrique unissant la vacuole antérieure à la postérieure est très nette, FIG. **113**. Il existe des macrospores énormes, FIG. **114**.

Forme ε.

Cette forme, que nous avons rencontrée trois fois, est caractérisée par le fait que sur le vivant la tumeur, vue au travers du revêtement chitineux de la larve, est rouge sang, et non pas, comme dans tous les autres cas, blanc laiteux.

Une de ces tumeurs dilacérée et examinée à frais a montré que la coloration était due à la présence dans les sporontes et même entre les sporoblastes d'une quantité de petits granules brun-rouge plus ou moins réfringents, animés de mouvements browniens.

Les deux autres tumeurs fixées et débitées en coupes ont donné des préparations absolument semblables à celles du type δ.

II. SYSTÉMATIQUE.

a) *Genre.*

Les microsporidies du *Simulium* ont été dénommées *Glugea varians* par Léger (97); Strickland (13) distingue trois espèces et leur conserve le nom générique de *Glugea*. Ce nom n'est pas approprié. L'un de nous (15) a décrit deux espèces de *Glugea* caractérisées par la production de deux sporoblastes aux dépens du zygote, et l'étude de l'espèce type de *Glugea anomala* (Debaisieux, 16) révèle la même caractéristique.

Lutz et Splendore (03,04) désignent ces microsporidies comme *Thélohania* sp. ind., puis plus tard (08) comme *Nosema simulii* α, β, γ et δ, les deux premiers étant du type *Plistophora*, les deux derniers du type *Thélohania*. Encore une fois le nom de *Nosema* créé par Nägeli (57) pour le *Nosema bombycis*, espèce à évolution toute différente, ne convient pas ici ; par contre les noms génériques de *Plistophora* (multisporées d'après Henneguy et Thélohan, 92) conviennent parfaitement aux espèces étudiées ici.

b) *L'espèce.*

Un caractère nous fait malheureusement défaut pour faire la comparaison des espèces étudiées ici avec celles décrites antérieurement : c'est la longueur du filament spiralé. Malgré des centaines d'essais faits par les procédés les plus divers, nous n'avons jamais obtenu cette dévagination. Dans nos recherches antérieures, nous l'avions provoquée une fois par l'éther probablement dans le *Thélohania fibrata*.

Malgré cette lacune nous croyons pouvoir établir comme suit les noms spécifiques des espèces :

1. La première espèce étudiée ici correspond indubitablement au *Glugea multispora* Strick. Cette identification est basée sur l'étude des dessins de Strickland (13) ; quant à la diagnose qu'il en donne, elle est fautive, parce que l'évolution du parasite en question lui était inconnue. Elle doit être modifiée comme suit :

Zygotes se formant à la périphérie du plasmodium végétatif; ils se développent sans se séparer l'un de l'autre et donnent chacun 8 sporoblastes (nombre probable). Tous les sporoblastes se développent côte à côte; les spores restent groupées en amas considérables. Spores de 4—5×3 μ. Longueur du filament?

Cette diagnose justifie le nom de *Thélohania multispora* Strick. Il y a une opposition qui pourrait paraître étrange entre le mot *Thélohania* (octosporé) et le qualificatif *multispora*. Il ne nous semble pas cependant qu'il y ait lieu de changer le nom spécifique, qui caractérise bien la particularité de cette espèce.

2 et 3. La seconde espèce étudiée est octosporée, à spores assez grandes, à peu près deux fois aussi longues que larges; elle ressemble à la troisième espèce, octosporée aussi, mais à spores plus petites subsphériques.

Deux espèces de microsporidies octosporées furent observées par Strickland (13) et par Lutz et Splendore (08). Elles diffèrent l'une de l'autre par la même particularité que celle que nous observons ici. C'est ce qui nous autorise à rapprocher notre forme 2 du *Glugea fibrata* Strick. et notre forme 3 du *Glugea bracteata* Strick. et de les appeler *Thélohania fibrata* et *Thélohania bracteata*.

Les diagnoses données ne correspondent cependant pas parfaitement, loin de là. Pour le *Glugea fibrata*, Strickland donne comme suit la mesure des spores : 6×3,5 μ, et Lutz et Splendore donnent pour le *Nosema simulii* δ, 5—5,5×3—3,5 μ. Nous trouvons en moyenne 7×3,5 μ. D'autre part la tumeur telle que la dessine Strickland montre des assises assez régulières, tandis que nous observons des tumeurs formées de parasites très irrégulièrement entremêlés.

Pour le *Glugea bracteata*, Strickland donne comme suit la mesure des spores 3×2,5 μ, filament environ 18 μ, et Lutz et Splendore donnent pour le *Nosema simulii* γ, 3,5×2,5μ, filament 35μ. Nous trouvons en moyenne 3—4×2,5—3 μ, filament? La disposition des parasites dans la tumeur telle que la dessine Strickland est plus régulière que celle que nous observons en général, et l'aspect qu'il dessine dans la fig. 4, pl. 2, ne fut jamais

retrouvé par nous. Nous considérons d'ailleurs ce stade de « myxosporidium » comme impossible et croyons à une erreur de la part de l'auteur.

Strictement nous pourrions créer des espèces nouvelles différentes et de celles de STRICKLAND et de celles de LUTZ et SPLENDORE. Mais les études sur les microsporidies nous ont habitués à rencontrer des variantes de description, dues et à des différences d'observation, et à des différences de préparation, et à des variations du parasite lui-même. Aussi nous ne croyons pas à l'existence de six *Thélohania* parasites du *Simulium* et nous n'hésitons pas, vu les analogies qui existent entre les descriptions qui en furent données, à ne reconnaitre que deux espèces

Voici les diagnoses que nous établissons suivant nos observations; elles complètent celles données par d'autres.

Thélohania fibrata. Zygote donnant 8 spores; spores moyennes de $7 \times 3{,}5\ \mu$; leurs dimensions sont très variables et il existe de nombreuses macrospores. Tumeur irrégulière; les stades divers sont entremêlés sans ordre.

Thélohania bracteata. Zygote donnant 8 spores; spores de $3-4 \times 2{,}5\ \ 3\ \mu$; régulièrement subsphériques; peu de macrospores. Tumeur irrégulière; les stades divers, généralement entremêlés, sont fortement tassés, ce qui donne un aspect très dense à la tumeur.

4. Quant à la quatrième espèce étudiée, elle est caractérisée par le fait que le nombre de spores naissant du diplocaryon est supérieur à 8, elle appartient dès lors au genre *Plistophora.* Elle est à rapprocher de *Nosema simulii* α et β type *Plistophora* de LUTZ et SPLENDORE.

Comme nous l'avons vu plus haut, cette espèce est polymorphe; on y trouve des variantes qui, si l'on poussait plus loin l'étude systématique, constitueraient peut-être des variétés, peut-être des espèces. Pour les raisons données plus haut (p. 196), nous ne parlons ici que de formes différentes et gardons le nom spécifique de *simulii* créé par LUTZ et SPLENDORE et appliqué par eux aux formes α et β à rapprocher des formes γ, δ et ε observées par nous.

Le *Plistophora simulii* est caractérisé par : Zygote donnant plus de spores, souvent vingt à trente. Spores ovalaires de $6-8 \times 3{,}5-5\ \mu$, parfois des macrospores; tumeurs assez régulières, les parasites à divers stades y sont régulièrement répartis. Espèce polymorphe.

FORME γ.

Stades jeunes disposés en assise annulaire à la périphérie de la tumeur; parmi ces stades jeunes existent de très nombreux diplocarya à noyaux très denses et très chromatophiles, FIG. 64—78; noyaux-hôtes petits et très nombreux.

FORME δ.

Stades jeunes disposés en cônes à bases appliquées à la périphérie de la tumeur; diplocarya à noyau généralement plus diffus; les différents stades d'évolution du parasite généralement plus grands que dans la forme précédente. Noyaux-hôtes très nombreux, généralement assez grands, à plusieurs nucléoles.

FORME ε.

Analogue à la précédente, tumeur rouge vif sur le vivant.

Comme nous l'avons dit plus haut, la distinction entre les formes n'est pas toujours aisée; il existe des formes douteuses et intermédiaires.

III. DISCUSSION.

Nous avons exposé ailleurs comment nous croyons qu'il faut concevoir le cycle évolutif des microsporidies (DEBAISIEUX, 15, texte-fig. 1).

Les recherches sur les microsporidies des larves de *Simulium* confirment cette façon de voir; leur évolution est analogue dans ses grandes lignes à celle décrite pour les *Glugea mülleri* et *danilewskyi*; elle en diffère cependant, d'une part par l'absence de certains stades, d'autre part par la netteté plus grande de quelques périodes de l'évolution et par l'existence d'aspects non observés ailleurs.

Les stades végétatifs à grand noyau unique et les multiplications végétatives par multipartition simultanée (SWARCZEWSKY, 14, DEBAISIEUX, 15) n'ont pas été observés dans les parasites des larves de *Simulium*.

Les noyaux-hôtes existent presque toujours à l'intérieur des tumeurs parasitaires. Ils sont tantôt petits et assez normaux, FIG. 61, 103, parfois énormes, anormaux et hypertrophiés.

La signification de ces noyaux est très discutée. D'après certains auteurs (MRAZEK, 97; HESSE, 05; PEREZ, 05, 08; STEMPELL, 04, 10; AWERINZEW et FEMOR, 11), ce seraient des noyaux végétatifs de microsporidies; par bour-

geonnement ils donneraient les stades jeunes. D'après d'autres (Korotneff, 62; Mercier, 08; Schröder, 09; Schuberg, 10; Mrazek, 10), ce sont les noyaux hypertrophiés des cellules-hôtes. Déjà antérieurement nous nous sommes ralliés à cette façon de voir en nous basant sur le fait que ces noyaux se divisent par des cinèses à type de métazoaires (Debaisieux, 13, fig. 120). Notre opinion se confirme par des arguments nouveaux :

1° Dans le *Plistophora simulii*, on observe des cinèses du type métazoaire, fig. 103.

2° Dans les tumeurs de *Thélohania fibrata*, il existe parfois des noyaux hypertrophiés qui, à cause de leur structure, fig. 19, doivent nécessairement être considérés comme des noyaux de glande salivaire.

3° Dans le *Plistophora simulii*, il existe parfois une continuité envahissante entre la tumeur et le tissu adipeux, fig. 62. Il est facile dans ce cas de constater l'identité des noyaux graisseux et des grands noyaux contenus dans la tumeur.

4° Dans certains cas d'infection intense par le *Plistophora simulii* ou par le *Thélohania bracteata*, la tumeur est métastatique et il existe de petits amas de parasites dans des cellules adipeuses normales.

Les *stades de diplocaryon* analogues à ceux qui existent ici ont été plusieurs fois décrits chez les microsporidies; Swellengrebel, 12, les considère comme provenant d'une autogamie au premier degré; Swarczewsky, 14, étudiant la même espèce, les considère comme formés par accolement de deux noyaux plasmodiaux, par conséquent comme autogamiques à un degré plus distant; Hartmann, 09, Caullery et Mesnil, 05, les observent chez les Haplosporidies, mais ne se prononcent pas sur leur origine.

D'après ce que nous avons vu, les diplocarya sont autogamiques au premier degré chez le *Thélohania multispora*. Ils sont également autogamiques chez les *Thélohania fibrata* et *bracteata*, mais il est difficile de dire si c'est au premier degré, c'est-à-dire si les deux moitiés d'un même noyau plasmodial restent accolées, ou si c'est au troisième ou quatrième degré, c'est-à-dire si deux des noyaux plasmodiaux peu nombreux s'accolent; rien n'empêcherait d'ailleurs que les deux modes d'autogamie coexistent. En ce qui concerne le *Plistophora simulii*, nous avons dit plus haut que beaucoup d'aspects plaident en faveur de l'autogamie au premier degré, et son existence est très probable; l'existence de l'hétérogamie est cependant possible.

La formation de diplocarya et de zygotes par accolement de deux noyaux plasmodiaux a été décrite pour les mycétozoaires par Kræenzlin, 07, et

JAHN, 08. Il n'y aurait pas autogamie certaine dans ce cas, parce que la plasmodie serait formée par fusion de plusieurs plasmodies plus petites. Dans les microsporidies qui nous intéressent ici, aucun processus de fusion de plasmodies ne paraît exister; d'ailleurs même pour les mycétozoaires l'existence de cette évolution paraît douteuse depuis que JAHN, 11, a modifié sa première façon de voir.

Les *divisions de diplocarya* sont un phénomène constant dans toutes les espèces étudiées ici. Il faut considérer comme telles les divisions d'aspect très particulier, FIG. 66 - 77, dans lesquelles on observe deux divisions bien distinctes évoluant parallèlement. Elles donnent naissance à deux diplocarya-filles, FIG. 77 – 78.

On serait tenté d'attribuer à ces divisions, qui ont lieu avant la formation du zygote, la signification de divisions réductionnelles. Les phénomènes - peut-être réductionnels - que nous avons antérieurement décrits, DEBAISIEUX, 13, p. 56, n'ont jamais été observés dans le présent matériel. Nos premières préparation ayant été brûlées, nous ne pouvons reprendre leur étude; mais l'inconstance des aspects dessinés, DEBAISIEUX, 13, fig. 57—71, conduit à leur dénier une importance essentielle.

Le rôle réductionnel des divisions du diplocaryon est également hypothétique, et le fait que les divisions doubles paraissent pouvoir se répéter plus ou moins souvent ne milite pas en faveur de cette interprétation.

BIBLIOGRAPHIE.

1911 *Awerinzew* et *Femor* : Studien über parasitische Protozoen. Sporenbildung bei *Glugea anomala*; Arch f. Protist., t. 23.

1905 *Caullery et Mesnil* : Recherches sur les Haplosporidies; Arch. Zool. ex. et génér., 4e série, t. 4.

1913 *Debaisieux* : Microsporidies parasites des larves de *Simulium Thélohania varians;* La Cellule, t. 30.

1915 » Études sur les microsporidies; La Cellule, t. 30.

1916 » Études sur les microsporidies. IV. *Glugea anomala;* La Cellule, t. 30.

1893 *Gurley* : On the classification of the Myxosporidia; Bull. U. S. Fisch. Comm., vol. 11.

1910 *Grünberg* : *Diptera*. Die Süsswasserfauna Deutschlands. Jena, Fischer

1909 *Hartmann* : Autogamie bei den Protisten; Arch. f. Protist., t. 14.

1892 *Henneguy* et *Thélohan* : Myxosporidies parasites des muscles chez quelques crustacés décapodes; Ann de Microgr., t. 4.

1904 *Hesse* : Le développement de *Thélohania légeri;* C. R. Soc. Biol., t. 56.

1905 » *Myxocystis mrazeki;* C. R. Soc. Biol., t. 57.

1908 *Jahn* : Myxomyceten Studien., 7. *Ceratomyxa;* Ber. Deut. Bot. Gesell., t. 26.

1911 » Myxomyceten Studien., 8. Der Sexualakt; Ibid., t. 29.

1892 *Korotneff* : *Myxosporidium bryzoïdes;* Zeit. wiss. Zool., t. 53.

1907 *Kränzlin* : Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien bei den Trichien und Arcyrien; Arch. f. Protist., t. 9.

1897 *Léger* : Sur une nouvelle myxosporidie de la famille des Glugéides; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 125.

1908 *Léger* et *Hagenmüller* : Recherches sur les Glugéides parasites des animaux d'eau douce; C. R. Ass. franç. Avanc. Sc., 26e sess.

1903 *Lutz* et *Splendore* : Ueber Pebrine und verwandte Myxosporidien; Centralbl. f. Bakt., Orig., t. 33.

1904 » Ueber Pebrine und verwandte Myxosporidien. Nachtrag; Ibid, t. 36.

1908 » Ueber Pebrine und verwandte Microsporidien; Ibid., t. 46.

1908 *Mercier* : Néoplasies du tissu adipeux chez les Blattes parasitées par une microsporidie; Arch. f. Protist., t. 11.

1897 *Mrazek* : Ueber eine neue Sporozoenform aus *Limnodrillus;* Sitz.-Ber. der Gesel. f. Wiss. Prag.

1910 » Zur Auffassung der Myxocystiden; Arch. f. Protist., t. 18.

1857 *Nägeli* : Ueber die neue Krankheit der Seidenraupe; Bot. Zeitsch., t. 15.

1912 *Ohmori* : *Nosema bombycis;* Arb. Kais. Gesundheitsamt, t. 40.

1905 *Pérez* : Sur une glugéide nouvelle de *Balanus amaryllis* : *Glugea stempelli;* C. R. Soc. Biol., t. 57.

1908 » *Duboscqia légeri;* C. R. Soc. Biol., t. 65.

1909 *Schröder* : *Thélohania chætogastris;* Arch. f. Protist., t. 14.

1010 *Schuberg* : Microsporidien aus dem Hoden der Barbe; Arb Kais. Gesundheitsamt, t. 33.

1903 *Stempell* : Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Polycaryum;* Arch. f. Protist., t. 2.

1904 » *Nosema anomalum;* Arch. f. Protist., t. 4.

1910 » Morphologie der Microsporidien; Zool. Anz., t. 33.

1911 *Strickland* : Some parasites of *Simulium* larvæ; Biol. Bull. Woods Hole, t. 21.

1913 » Further observations on the parasites of *Simulium* larvæ; Journ. of Morphol., t. 24.

1914 *Swarczewsky* : Ueber Lebencyclus einiger Haplosporidien; Arch. f. Protist., t. 33.

1911 *Swellengrebel* : *Plistophora gigantea* a parasite of *Crenilabrus;* Kon. Akad. Wetensch., Amsterdam.

1912 » The life-history of *Plistophora gigantea;* Parasitology, t. 4.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Les dessins ont été faits à l'aide de l'objectif apochromatique à immersion 2 mm. de KORISTKA *et de l'oculaire* 18 *de* ZEISS = × 2250 *diam La projection à la chambre claire a été faite un peu en dessous de la platine du microscope. Une échelle rendant compte du grossissement est reproduite en tête de la première planche.*

Les figures 19, 40, 61 et 103, *dessinées à l'oculaire* 6, *sont réduites au* 1/3, *et la figure* 102, *dessinée à l'oculaire* 2, *est réduite au* 1/9 *par rapport à cette échelle.*

Les dessins sont faits d'après des préparations fixées au BOUIN *et colorées à l'hématoxyline de* HEIDENHAIN *et au rouge Congo. Les exceptions à cette règle sont mentionnées après l'explication de la figure.*

PLANCHE I.

Thélohania multispora.

FIG. **1.** Portion périphérique de la tumeur; quelques stades plasmodiaux limités à gauche par une zone différentiée, qui sépare la tumeur du tissu voisin (×), et en contact à droite avec des amas de sporoblastes.

FIG. **2—3.** Stades mononucléés avec divisions nucléaires.

FIG. **4** Plasmodie; les noyaux montrent des ébauches de division.

FIG. **5.** Plasmodie; noyau en division.

FIG. **6.** Plasmodie; les noyaux montrent des divisions doubles, qui représentent sans doute des divisions de diplocaryon.

FIG. **7.** Plasmodie en voie de cloisonnement; certains noyaux se dédoublent pour former les diplocarya.

FIG. **8.** Id en un stade plus avancé.

FIG. **9—10.** Plasmodie avec diplocarya formés.

FIG. **11.** Éparpillement des noyaux des diplocarya.

FIG. **12.** Id.; le cloisonnement de la plasmodie est achevé; les diplocarya restent unis par du protoplasme différencié.

FIG. **13.** Zygotes issus d'une même plasmodie et restant réunis.

FIG. **14.** Première division sporogoniale des zygotes.

FIG. **15.** Télophases de la première division sporogoniale

FIG. **16.** Télophases de divisions ultérieures.

FIG. **17.** Amas de sporoblastes, provenus de plusieurs sporontes issus d'une même plasmodie.

FIG. **18.** Spores mûres; leur structure n'est pas visible.

PLANCHE II.

Thélohania fibrata.

FIG. **19.** Portion périphérique de la tumeur; un noyau de glande salivaire y est englobé. Les divers stades du parasite sont disposés sans ordre dans la tumeur; les spores sont généralement aplaties et déformées. Dessin réduit au 1/3.

FIG. **20.** Stade plasmodial à noyaux peu nombreux. Fix. ZENKER.

FIG. **21.** Individus mononucléés et individus binucléés au moment de la division du protoplasme. La plupart des noyaux sont en diplocaryon; ceux-ci se forment peut-être par dédoublement nucléaire, peut-être par accolement de deux noyaux (×). Fix. ZENKER.

FIG. **22.** Individus à diplocaryon. Fix. ZENKER.

FIG. **23.** Division nucléaire; les deux filaments unissant les noyaux-filles supportent un corpuscule chromatique.

FIG. **24.** Division de diplocaryon; il existe deux granules chromatiques Fix. ZENKER.

FIG. **25.** Télophases et reformation de diplocarya-filles.

FIG. **26.** Id. et stades faisant croire à la formation du diplocaryon par dédoublement nucléaire.

FIG. **27.** Individus à diplocaryon à moitiés denses et bien distinctes.

FIG. **28.** Zygote. Fix. ZENKER.

FIG. **29.** Première division sporogoniale.

FIG. **30.** Secondes divisions sporogoniales.

FIG. **31.** Id. Stade plus avancé; existence de deux granules polaires et d'un filament achromatique médian. Fix. ZENKER.

FIG. **32.** Id. Télophase. Formation de quatre noyaux dans le sporonte, dans le protoplasme duquel apparaît la différentiation qui amènera l'isolement des sporoblastes. Fix. ZENKER.

FIG. **33.** Troisièmes divisions sporogoniales.

FIG. **34** Huit sporoblastes formés d'un noyau et d'un peu de protoplasme, unis les uns aux autres par du protoplasme différentié. — Il n'y a que six sporoblastes visibles sur le dessin.

FIG. **35.** Sporoblastes individualisés. Fix. ZENKER.

FIG. **36.** Spore mûre; sa structure interne n'est pas visible.

FIG. **37.** Macrospore. Fix. ZENKER.

FIG. **38 39.** Individualisation dans le sporonte de grands éléments mononucléés, qui régénèreront probablement les stades végétatifs. Fix. ZENKER.

Thélohania bracteata.

FIG. **40.** Portion de la tumeur englobant un noyau-hôte hypertrophié, lacunaire. Les divers stades du parasite sont disposés sans ordre. Dessin réduit au 1/3.

FIG. **41.** Plasmodie avec noyaux montrant des ébauches de division.

FIG. **42.** Plasmodie avec diplocarya. Début de cloisonnement du protoplasme.

FIG. **43.** Isolement des individus à diplocaryon.

FIG. **44.** Division nucléaire.

FIG. **45.** Division nucléaire double à axes croisés.

FIG. **46.** Développement des diplocarya. Fix. ZENKER.

FIG. **47.** Formation du zygote. Fix. ZENKER.

FIG. **48.** Zygote. Apparition à la limite du protoplasme de granules de différentiation.

FIG. **49.** Première division sporogoniale. Accentuation de la différentiation protoplasmique.

FIG. **50 – 52.** Id. Télophase.

FIG. **53.** Sporonte à deux noyaux. Fix. ZENKER.

FIG. **54.** Secondes divisions sporogoniales.

FIG. **55.** Sporonte à quatre noyaux. Fix. ZENKER.

FIG. **56.** Sporonte à huit noyaux. Fix. ZENKER.

FIG. **57.** Sporoblastes réunis par huit. Chaque sporoblaste possède un gros noyau et un petit granule chromatique dans le protoplasme.

FIG. **58.** Spore mûre. Vacuole antérieure avec formation en haltère, vacuole postérieure contenant le filament spiralé apparemment court.

FIG. **59—60.** Macrospores.

PLANCHE III.

Plistophora simulii.

FIG. **61.** Portion périphérique de la tumeur. Les différents stades du parasite sont régulièrement disposés en assises concentriques. Nombreux noyaux-hôtes petits à gros nucléole et à nombreux granules chromatiques. Dessin réduit au 1/3.

FIG. **62**. Individu plasmodial situé à la limite de la tumeur à un endroit où elle envahit les cellules adipeuses voisines.

FIG. **63**. Portion périphérique de la tumeur. On y voit trois noyaux-hôtes des individus à diplocaryon et un stade énigmatique peut-être plasmodial. Une membrane sépare la tumeur du tissu voisin. Dessiné d'après une tumeur à parasites de forme intermédiaire peu définie.

FIG. **64**. Individus à noyau en diplocaryon.

FIG. **65**. Stade énigmatique : peut-être dédoublement nucléaire pour former le diplocaryon, peut-être division de diplocaryon.

FIG. **66**. Divisions nucléaires. En *b*, division de diplocaryon, en *a*, la même division vue de profil ou bien division simple.

FIG. **67 74**. Divers aspects de division de diplocaryon.

FIG. **75—77**. Télophase et reconstitution de deux diplocarya-filles.

FIG. **78**. Deux individus à noyau en diplocaryon.

FIG. **79–80**. Développement du diplocaryon.

FIG. **81—82**. Zygote.

FIG. **83**. Ébauche de la première division sporogoniale. Les filaments chromatiques sont orientés ; au milieu d'eux apparaît une travée médiane achromatique.

FIG. **84**. Le même stade que le précédent vu en coupe médiane (ce dessin est fait d'après la forme δ).

FIG. **85—86**. Première division sporogoniale.

FIG. **87–88**. Id. Télophase.

FIG. **89**. Sporonte à deux noyaux.

FIG. **90**. Divisions sporogoniales ultérieures.

FIG. **91**. Divisions sporogoniales à un degré plus avancé encore. Deux aspects particuliers isolés de la masse des parasites.

FIG. **92—93**. Individualisation des sporoblastes.

FIG. **94**. Sporoblastes à gros noyau et à granule chromatique logés dans une vacuole. Fix. sublimé-alcool.

FIG. **95—100**. Stades successifs de la transformation du sporoblaste en spore. Fix. Sublimé-alcool.

FIG. **101**. Aspect établissant probablement le passage de la sporogonie aux stades végétatifs à diplocaryon.

Plistophora simulii, forme δ.

FIG. **102**. Aspect général de la tumeur, les stades jeunes disposés en cône à base appliquée contre la paroi, et entourés de toutes parts de spores isolées. Dessin réduit au 1/9.

FIG. **103**. Portion périphérique de la tumeur montrant de nombreux noyaux-hôtes assez grands à plusieurs nucléoles. Un de ces noyaux est en cinèse. Dessin réduit au 1/3. Fix. Zenker.

FIG. **104—106**. Stades de noyau simple et de diplocarya semblant indiquer la formation de ces derniers par dédoublement des premiers.

FIG. **107**. Divisions de diplocarya.

FIG **108**. Deux sporontes à limites peu indiquées; dans l'un quatre noyaux en division, dans l'autre éléments plus ou moins individualisés dont la disposition indique la commune origine aux dépens d'un même zygote.

FIG. **109**. Sporoblastes à gros noyau et à granule chromatique extranucléaire. Fix. sublimé-alcool.

FIG. **110—112**. Transformation de sporoblaste en spore. Fix. sublimé-alcool.

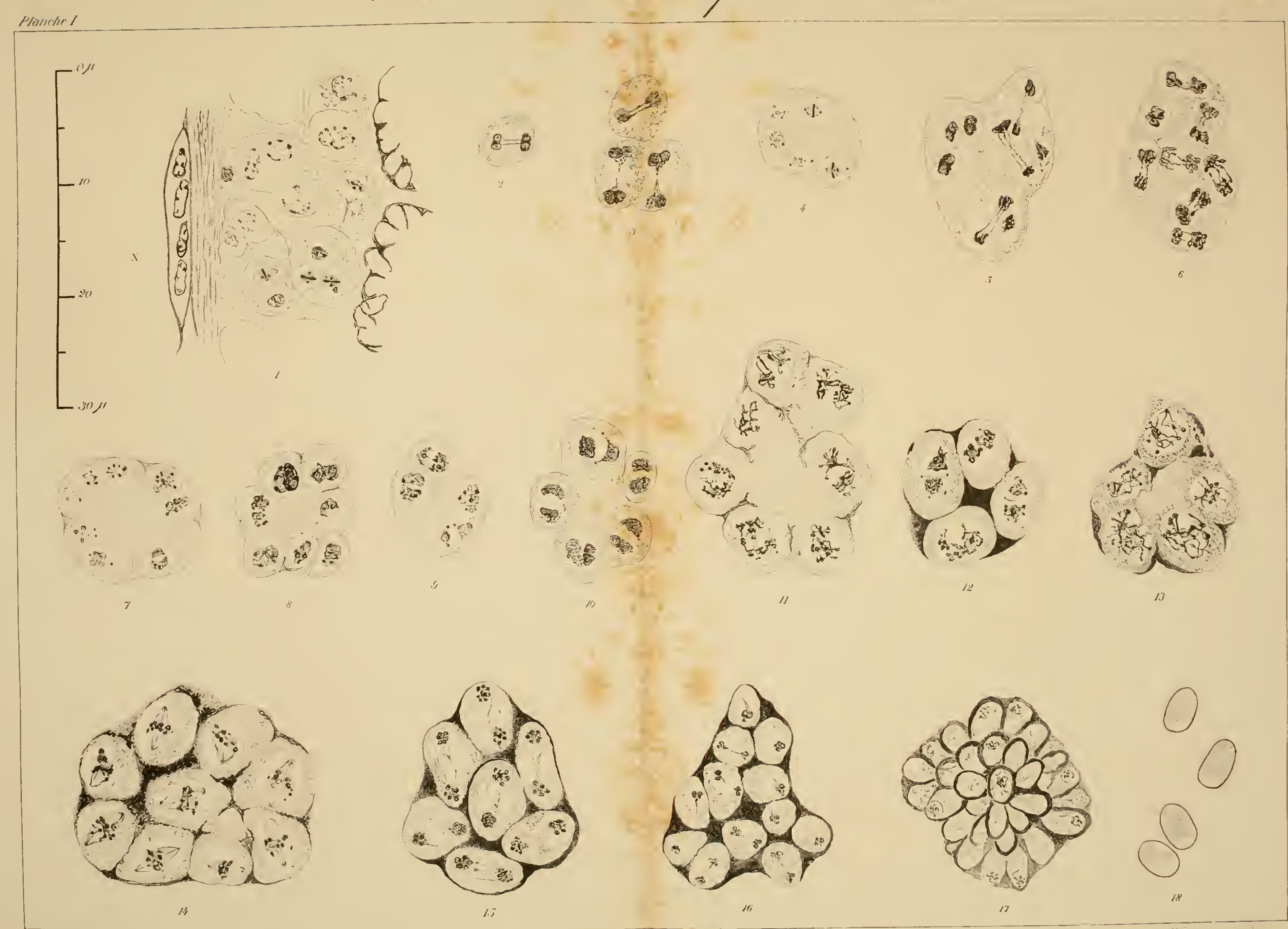
FIG. **113**. Spore mûre. Fix. sublimé-alcool.

FIG. **114**. Macrospore. Fix. sublimé-alcool.

TABLE DES MATIÈRES.

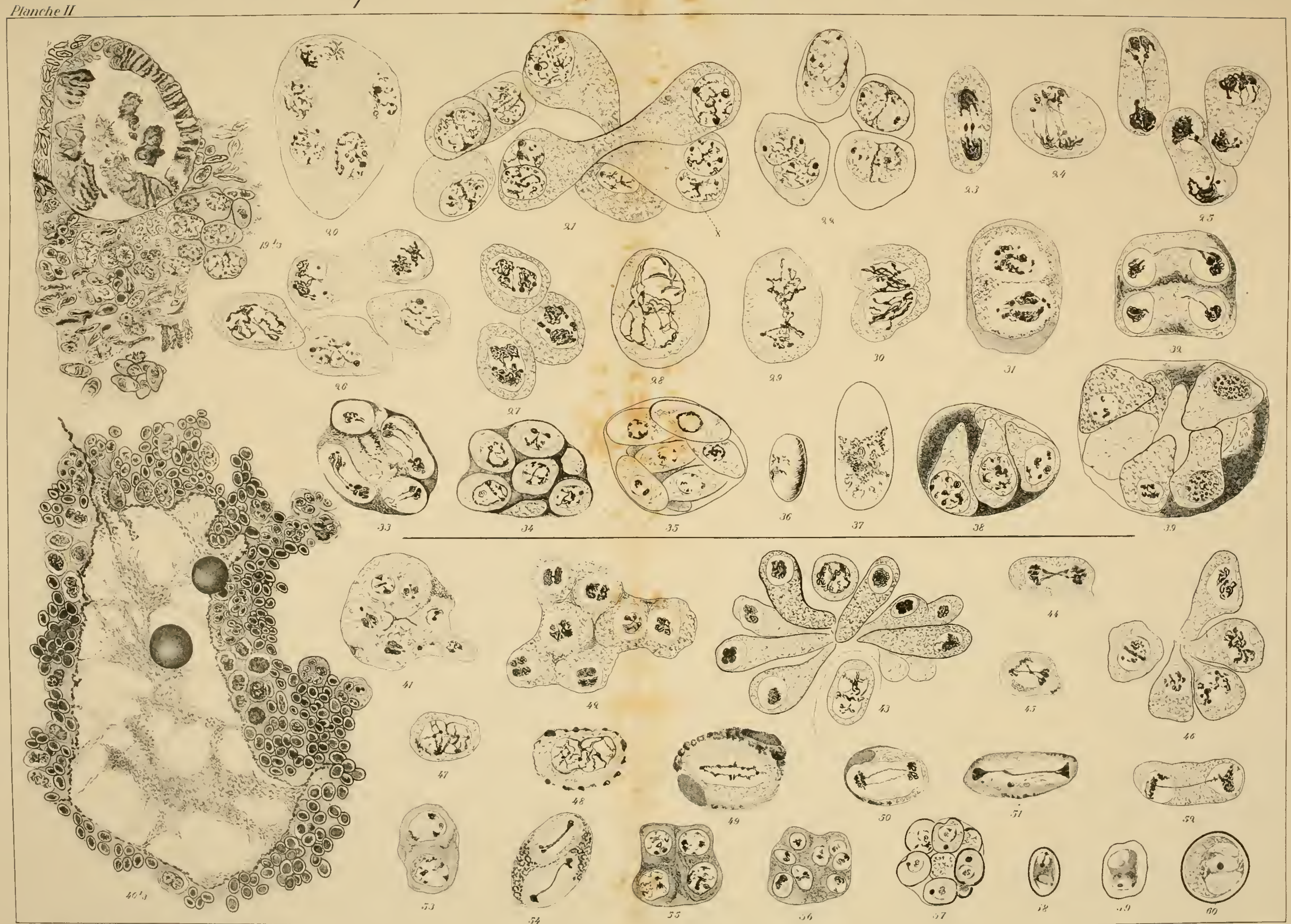
Cholelhania multispora. Strick.

Planche I



Chelchania fibrata Strick. et Chelchania bracteata Strick.

Planche II



Lith H Jacob … Brux

F Bresemans …

Pleistophora simulii. L. et Sp.

Planche III.



P Debaisieux et L. Gastaldi ad nat. del.

F Besemans Sculp.

LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

FONDÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

PUBLIÉ PAR

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

TOME XXX

2d FASCICULE

Prix : 40 francs.

LIERRE
Typ. de JOSEPH VAN IN & Cie,
Grand'place, 38.

LOUVAIN
A. UYSTPRUYST, Libraire,
rue de la Monnaie.

1920

Études sur les Microsporidies

IV. Glugea anomala Monz.

PAR

Paul DEBAISIEUX,

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 10 janvier 1916.)

Études sur les Microsporidies, IV.

INTRODUCTION.

Historique. Les microsporidies de l'épinoche *(Gasterosteus aculeatus* L.) sont depuis longtemps connues et ont fait couler pas mal d'encre (LABBÉ, 99); mais les problèmes que leur étude soulève sont loin d'être résolus et le présent travail n'a la prétention ni de répondre à tous ni de les solutionner définitivement.

Les tumeurs sous-cutanées de l'épinoche furent découvertes en Belgique par GLUGE (38); la nature parasitaire de ces tumeurs ne fut reconnue que plus tard, et MONIEZ (87) donne au parasite le nom de *Nosema anomala* MONZ. Le nom générique *Nosema* créé par NÄGELI (57) pour une espèce toute différente (OHMORI, 12), le *Nosema bombycis*, ne peut convenir à l'espèce qui nous intéresse, et THÉLOHAN (91) crée pour elle le genre *Glugea*, rappelant ainsi l'auteur qui le premier décrivit les tumeurs qu'elle provoque; il dénomme le parasite *Glugea microspora* THÉL. GURLEY (93) lui rend son nom spécifique primitif et l'appelle *Glugea anomala* MONZ. Ce nom est actuellement admis et le parasite des tumeurs de l'épinoche constitue dès lors l'espèce type du genre *Glugea*.

STEMPELL (04) a fait l'étude détaillée de cette espèce; il décrit de nombreuses particularités qui cadrent difficilement avec les observations faites sur l'évolution et la cytologie d'autres microsporidies. La description de STEMPELL fut plusieurs fois mise en doute (SCHRÖDER, 09, DOFLEIN, 09, MRAZEK, 10, SCHUBERG, 10); cependant dans une note plus récente (10) il maintient, sans apporter d'observations nouvelles, son ancienne façon de voir; il proteste même, sur un ton auquel nous ne sommes pas habitués dans les travaux scientifiques, contre ceux qui « discutent ou interprètent des faits qu'ils n'ont pas vus eux-mêmes, façon de faire qui ne fait pas avancer nos connaissances d'un pas! »

Ce qu'il avait vu lui-même avait malheureusement été observé sur du matériel fixé au sublimé-alcool et au formol à 4 °/₀ à action prolongée pendant plusieurs années! C'est sans doute à la défectuosité de son matériel qu'il faut attribuer ses erreurs et également au fait qu'il a étudié, comme tumeur en pleine évolution et formant des métastases, un cas qui n'offrait que des stades en dégénérescence et même en histolyse.

Un travail d'Awerinzew et Femor (11) se rapporte à une période très limitée du cycle d'évolution; il confirme en somme les idées de Stempell.

Enfin une très longue étude de Weissenberg (13) réfute la plupart des vues erronées des précédents auteurs et donne du *Glugea anomala* une description qui cadre beaucoup mieux avec ce qui est connu des autres microsporidies.

Nos recherches nous ont conduit à confirmer une grande partie des conclusions de Weissenberg; quelques-unes nous paraissent prématurées; d'autre part, malgré la surabondance des détails qu'il observe, la plupart des phénomènes cytologiques et le processus de fécondation lui ont échappé.

Le *matériel* qui servit à cette étude provient d'un ruisseau des environs de Louvain; parmi les milliers d'épinoches pêchées il n'y en avait guère que 3 ou 4 °/₀ d'infectées; nous avons pu nous en procurer environ 70. Une soixantaine de tumeurs furent fixées et soumises à l'examen microscopique; les autres servirent à l'examen sur le vivant et à des essais d'infection artificielle.

Les *méthodes* furent variées : les fixateurs de Zenker, de Bouin, la modification alcoolique de ce dernier conseillée par Brasil (05), de Benda de Flemming faible et le sublimé-alcool à chaud furent tour à tour employés. Les deux premiers nous donnèrent les meilleurs résultats au point de vue de la conservation des figures cytologiques; le sublimé-alcool, ainsi que nous l'avons observé pour beaucoup d'autres objets, donne une fixation trop énergique avec coagulations et condensations intranucléaires irrégulières et informes. Dans beaucoup de cas nous nous sommes bien trouvé de fixer les kystes après en avoir incisé la membrane, ce qui favorise la pénétration des réactifs; la fixation de kystes intacts est cependant requise, pour ne pas altérer la disposition du contenu.

Comme colorants nous ne citerons que l'hématoxyline de Heidenhain avec ou sans coloration au rouge Congo.

Un grand nombre d'autres colorations furent essayées ou employées dans un but spécial ; nous les rappellerons au cours du mémoire.

Disons ici que la mise en évidence du filament spiralé de la spore fut obtenue une fois par l'action pendant 24 heures de la glycérine en solution de 10 à 20 °/₀; le plus grand nombre des filaments furent dévaginés. L'expérience fut reprise souvent par le même procédé, et bien d'autres réactifs furent essayés; tous ces nouveaux essais restèrent infructueux.

Ce travail est divisé en deux parties : dans la *première, descriptive* surtout, nous ne discuterons qu'occasionnellement l'un ou l'autre point d'importance secondaire, évitant ainsi de l'allourdir par des considérations nécessairement un peu longues et pas toujours concluantes. Ces considérations seront rassemblées dans une *seconde partie, de discussion.*

A. PARTIE DESCRIPTIVE.

I. Aspect macroscopique.

Les tumeurs se présentent généralement isolées; parfois il en existe deux ou trois sur le même individu, mais elles sont indépendantes les unes des autres. Leur siège est excessivement variable, soit sur une nageoire paire ou impaire, soit à la paroi de la cavité branchiale, soit à la cornée, soit sur une partie quelconque de la surface du corps. Nous n'en avons pas trouvé sur les organes internes. Leur aspect varie, mais en somme assez peu. Tantôt la tumeur est une sphérule parfaite, blanche, pouvant atteindre 3 millimètres, accolée au corps par une base rétrécie; tantôt elle forme une protubérance à peine hémisphérique, sans coloration particulière, la pigmentation de l'épiderme étant restée intacte; dans quelques cas ces protubérances sont plus ou moins déprimées et on les diagnostique à première vue comme des tumeurs vidées de leur contenu.

Une fois nous avons pu suivre l'évacuation du contenu d'une tumeur hémisphérique; par une déchirure de la peau le contenu s'écoula et pendant deux jours des lambeaux blanchâtres flottèrent rattachés aux lèvres de la plaie; après restauration une petite tumeur sphérique d'un demi-millimètre siégeait au niveau de la cicatrice; elle disparut après une quinzaine de jours sans laisser de traces (THÉLOHAN, 92, BRAUN, 93).

La forme sphérique peut probablement se détacher en entier du corps et ne crever que ultérieurement (THÉLOHAN, 90). Enfin, dans un seul cas nous avons observé une tumeur mûriforme à 6 ou 7 kystes accolés.

A la dissection les tumeurs sphériques se séparent facilement du corps; quant aux tumeurs plus profondes, après incision de la peau elles apparaissent comme les précédentes parfaitement blanches, presque sphériques, et peuvent être aisément énucléées; on les fait sortir en entier de leur loge. Il semble dès lors que le kyste entouré de sa membrane soit sans rapport avec le tissu voisin; nous verrons cependant plus loin qu'en fait des lambeaux du tissu conjonctif sont entraînés avec le kyste, à la membrane duquel ils adhèrent.

II. Aspect microscopique.

La tumeur est logée dans le derme entre les faisceaux de cellules conjonctives fibrillaires riches en substance connective; des lacunes remplies de sang avoisinent généralement la paroi du kyste; il existe souvent une couche de tissu conjonctif à cellules modifiées, en assises concentriques; l'épiderme est normal.

Autour des tumeurs en plein développement et nous n'envisagerons momentanément que celles-là, il existe une membrane continue de 5 à 10 μ d'épaisseur, qui sépare le kyste du tissu conjonctif voisin, FIG. 1, 2, 5. Très élective pour la plupart des colorants, cette membrane apparaît plus ou moins hyaline après décoloration; elle est de structure feuilletée. On la considère souvent comme appartenant en propre à la tumeur et formée par elle (Stempell, 04, Weissenberg, 13); cette façon de voir est loin d'être prouvée (voir 2e partie, § II).

Dans la tumeur proprement dite on peut distinguer trois zones; la première — contre la membrane — est bien distincte par rapport à la seconde; celle ci est sans limites nettes par rapport à la troisième. Les deux dernières sont schématiquement séparées l'une de l'autre pour la facilité de la description.

1. Immédiatement sous la membrane existe une assise continue de protoplasme, FIG. 1, 2. Cette zone d'épaisseur variable est nettement limitée du côté de la membrane; du côté interne, elle se prolonge entre les divers éléments figurés de la seconde zone. Dans les préparations surcolorées, on note que les mailles du réseau protoplasmique sont chargées d'une infinité de fines granulations; elles se décolorent quand la différentiation est conduite à point. L'aspect de cette zone est alors uniforme; cependant dans quelques préparations le réseau est moins apparent à la périphérie, FIG. 1,

et parfois aussi l'accumulation des granules colorables s'arrête à quelque distance de la membrane.

Dans cette zone de protoplasme uniforme existent parfois quelques enclaves excessivement ténues quelques très petits granules chromatiques entourés d'une aréole claire, FIG. 6, 2e partie § II.

2. Dans la seconde zone, le protoplasme fondamental contient de très nombreux noyaux FIG. 1—4. Il n'y a pas de limite réelle entre cette zone et la précédente, mais elles paraissent être séparées tant les noyaux apparaissent nombreux en un même niveau.

A première vue on observe de grands noyaux ; ils sont tantôt sphériques, à beau réseau chromatique et à un ou plusieurs globules nucléolaires, FIG. 2, 3; tantôt très irréguliers, presque déchiquetés, en lambeaux allongés, ils paraissent être en dégénérescence. FIG. 1, 3.

Entre ces gros noyaux en existent une infinité de petits ; les uns, situés surtout du côté de la périphérie, sont isolés; ils plongent dans un espace clair et sont entourés d'une petite couche protoplasmique distincte du protoplasme fondamental, FIG. 1, 2; d'autres sont réunis en plasmodies. Parmi celles-ci, beaucoup sont fortement allongées, disposées en faisceaux plus ou moins entortillés, FIG. 4; d'autres sont subsphériques, FIG. 1.

A la partie interne de la zone moyenne se trouvent de grandes vacuoles, qui contiennent des individus uninucléés provenus de la fragmentation des plasmodies et tous les stades de sporulation, FIG. 4.

3. Enfin toute la zone centrale du kyste est bourrée de spores mûres. Elles sont réunies en nombre variable, mais restreint, dans de petits kystes sporaux tassés les uns contre les autres, séparés seulement par une mince membrane qui représente probablement le dernier reste des travées du protoplasme fondamental. Au centre de la tumeur, ces membranes elles-mêmes disparaissent et toutes les spores sans être tassées, ne forment plus qu'un seul ensemble.

Cette troisième zone constitue la partie de loin la plus volumineuse de la tumeur ; son diamètre est dix fois, vingt fois supérieur à celui des zones périphériques. Comme nous l'avons déjà dit, elle se confond plus ou moins avec la seconde zone ; on rencontre des kystes sporaux à la périphérie de la seconde et des prolongements protoplasmiques dans la troisième ; il existe même des îlots d'éléments jeunes, qui paraissent perdus au centre du kyste.

Nous étudierons d'abord l'évolution des éléments qui sont certainement parasitaires, puis les grands noyaux hypertrophiés.

III. Les stades parasitaires.

a) Multiplications végétatives et formation des plasmodies.

Les plus jeunes éléments parasitaires sont uninucléés, FIG. 7; autour du noyau chromatique il y a généralement un espace clair, puis une petite zone de protoplasme distinct du protoplasme voisin. Une membrane limitante est parfois difficile à reconnaître, tant ces éléments sont petits; elle apparaît clairement dans des parasites plus âgés, FIG. 13.

Presque toujours ces noyaux sont en voie de division; on y distingue deux granules plus sombres situés en deux pôles opposés; ils deviennent de plus en plus nets, apparaissent réunis entre eux par une mince travée; ils diminuent de volume, tandis que les éléments chromatiques se ramassent à l'équateur, FIG. 8.

Quand la situation polaire des granules et la disposition équatoriale des éléments chromatiques sont acquises, il semble que les granules soient doubles et qu'il y ait deux filaments unissants. Le phénomène n'est pas certain; il se devine plutôt qu'il ne se voit, mais est rendu probable par l'aspect de l'anaphase. Pendant l'anaphase, les éléments chromatiques semblent diffluer sur deux filaments directeurs, FIG. 9; arrivés au pôle, ils sont nettement groupés en deux masses distinctes, FIG. 10; entre les deux amas polaires, deux filaments chromatiques existent; ils supportent parfois un ou deux granules médians, FIG. 10.

A la télophase les deux noyaux-filles se reforment; ils restent longtemps unis par une travée légèrement colorable et enfin se séparent, FIG. 11, 12.

La division, au lieu d'être complète peut n'être que nucléaire et il y a alors formation de plasmodies. On en rencontre à 2, 4, 6 ... 30 noyaux, FIG. 1, 3, 4. Ces plasmodies prennent une forme très allongée ne possédant que un ou deux noyaux sur un même plan transversal; leur protoplasme est nettement distinct du protoplasme voisin; parfois une mince zone claire l'en sépare. Les divisions nucléaires y sont analogues à celles déjà décrites; elles se succèdent rapidement et leur grand nombre permet d'étudier aisément tous les stades, FIG. 13—15. Souvent il y a, comme dans le premier cas d'ailleurs, des aspects fusoriaux, FIG. 3, 13.

Après un certain nombre de divisions nucléaires, variable suivant les individus, les plasmodies perdent leur forme allongée, se ramassent sur elles-mêmes, et deviennent globuleuses, FIG. 16. Dès lors les noyaux ne se divi-

sent plus; ils plongent dans le protoplasme entourés d'une aréole claire; il est impossible à cause de leur petitesse de suivre les processus qui se passent en eux, mais très fréquemment ils montrent des aspects de dédoublement, FIG. 16—19. Jamais nous n'avons observé d'aspect qui permette de croire qu' au lieu d'un dédoublement il existe un accolement de deux noyaux.

La plasmodie se résout en individus plus simples; par cloisonnement irrégulier du protoplasme, il se forme des plasmodies paucinucléées, FIG. 17—19, puis uninucléées, FIG. 19, 20. Les individus binucléés sont très fréquents, FIG. 19. Ici aussi on serait tenté de croire à l'existence de deux individus conjugués ou tout au moins de deux noyaux-sœurs destinés à se fusionner. Après de longues et patientes observations, nous avons dû nous résoudre à conclure qu'il n'en est rien; les individus binucléés ne sont qu'un stade transitoire de la résolution des plasmodies en individus uninucléés.

b) Formation des sporoblastes.

Les plasmodies se résolvent en individus uninucléés à noyau double, FIG. 20, 21; ils sont probablement le siège d'un processus de fécondation; ultérieurement ils se divisent pour donner deux sporoblastes. La signification qui est attribuée à ces stades du parasite sera discutée plus tard. Nous considérons comme zygotes formés par un diplocaryon autogamique les individus provenant de la résolution de la plasmodie et comme sporontes ces même individus dès qu'ils montrent une ébauche de division en sporoblastes.

Les zygotes, Vacuolenzellen de WEISSENBERG (13), plongent en nombre variable dans la grande vacuole occupée primitivement par la plasmodie, FIG. 21. Cet espace est nettement limité, mais il est difficile de dire s'il possède une membrane propre. A suivre sa formation il semble que non. Quoi qu'il en soit, il existe une quantité d'espaces clos, dans lesquels se développeront les spores et que l on peut dénommer les kystes secondaires.

Les copulas autogamiques ne possèdent qu'un seul appareil nucléaire, mais ce noyau apparaît double, et ce très nettement, au point que parfois les deux constituants sont séparés l'un de l'autre, FIG. 20. Comme nous l'avons dit, aucune observation ne nous permet de croire à l'accolement de deux noyaux primitivement distincts.

Lorsque ce que nous supposons être un processus de fécondation (2e partie, § v) est achevé, nous nous trouvons en présence d'un sporonte dont

le noyau unique se réduit par une mitose unique en deux sporoblastes. Ce fait est à rapprocher de ce qui s'observe si nettement chez les microsporidies des larves de *Simulium* (Debaisieux et Gastaldi, 15), où une grande copula, nettement dédoublée, se transforme en un zygote unique, qui aussitôt se divise par une mitose simple.

La division nucléaire sporoblastique se présente exactement sous le même aspect que celle décrite dans les plasmodies, fig. 22-29 : apparition de deux granules très chromatiques réunis en haltère; mise en place de ces granules aux pôles et condensation à l'équateur des éléments chromatiques, fig. 22, 23; anaphase suivant deux filaments directeurs, fig. 24, et enfin à la télophase existence de deux masses chromatiques en chaque pôle fig. 25-29.

Une particularité cependant : avant la restauration des deux noyaux-filles, on voit apparaître dans le protoplasme deux plages plus chromatiques que l'on peut suivre ultérieurement jusque dans le sporoblaste, fig. 25—27, 29-31.

Par étranglement chaque sporonte donne deux sporoblastes, fig. 29. Rien n'autorise à croire à la répétition du processus et à la formation de 4 ou de 8 sporoblastes par sporonte (Swarczewsky, 14). Une fois nous avons vu deux divisions sporoblastiques dans un même sporonte, fig. 27. Ce cas tout à fait exceptionnel doit être interprété comme provenant d'une copula autogamique double, deux noyaux étant restés anormalement groupés dans une même masse de protoplasme par fragmentation incomplète de la plasmodie.

c) Formation des spores.

Les spores se forment de la même façon que dans *Glugea danilewskyi* et *G. mülleri* (Debaisieux, 15), mais les différents stades sont difficiles à suivre.

Le noyau du sporoblaste, d'abord double à la télophase de la division sporogoniale, fig. 29, 30, devient simple ultérieurement, fig. 31.

Les enclaves chromatiques du protoplasme qui apparaissent lors de la division sporogoniale, fig. 25—27, 29—31, pourraient donner naissance au granule extranucléaire, d'où dériveront les éléments de la vacuole antérieure de la spore; mais il nous paraît beaucoup plus probable qu'elles doivent être comparées aux différentiations du protoplasme qui apparaissent dans les sporontes de *Thélohania* et de *Plistophora* (Debaisieux et Gastaldi, 15) et qui interviennent dans la formation des enveloppes sporales.

Dans les sporoblastes naissent une vacuole antérieure et une postérieure. Le noyau *paraît* rester longtemps dans la vacuole postérieure, FIG. **33**, **35**; il est probable que finalement il disparaît dans la zone protoplasmique lenticulaire qui existe entre les deux vacuoles, FIG. **37**, **38**.

Dans la spore mûre il existe 1) une petite vacuole antérieure, dans laquelle se trouvent logés deux granules chromatiques réunis par une mince travée, 2) une vacuole postérieure plus volumineuse, dans laquelle est enroulé le filament spiralé, 3) entre les deux un disque biconcave de protoplasme, FIG. **37**, **38**.

d) Retour aux stades initiaux.

L'hypothèse de la régénération des stades jeunes aux dépens des sporontes sans transformation en spore, — hypothèse que nous avons émise à propos des microsporidies du *Simulium* et des *Glugea* du *Tropidonotus* et du *Gammarus* (Debaisieux et Gastaldi, 15, Debaisieux, 13, 15) — trouve dans cet objet un argument nouveau et de grande valeur.

On est frappé de rencontrer parfois dans les préparations des individus volumineux, à noyau unique relativement énorme et très dense, FIG. **46**. Ces stades sont rares; nous n'en avons guère observé qu'une quinzaine d'exemples; ils se trouvent dans la zone moyenne de la tumeur, parfois renfermés dans un kyste secondaire, parfois logés dans le protoplasme fondamental; ils sont toujours nettement distincts, à contours nets, isolés du tissu voisin. Ces stades sont analogues aux stades végétatifs à grand noyau et à multiplication simultanée décrits par Swarczewski (14) dans le *Glugea gigantea*, retrouvés par nous dans le *Glugea danilewskyi* (14) et également dans le *Plistophora periplanetæ* (observations non publiées).

L'origine de ces parasites se rattache indubitablement aux sporontes. Reprenant l'étude de l'évolution du sporonte, nous voyons en effet qu'ils ne se transforment pas toujours en deux spores.

On rencontre fréquemment des divisions qui, au lieu de se faire suivant le grand axe du sporonte, FIG. **24**, **25**, évoluent excentriquement, FIG. **39**. Il convient cependant de n'attribuer que peu d'importance à cette différence d'allure; quoiqu'elle soit très nette, l'étude des préparations ne nous permet pas d'écarter l'hypothèse d'une intervention des réactifs dans sa production. Mais on rencontre aussi des sporontes dans lesquels les divisions nucléaires se succèdent sans division du protoplasme, et cela sans qu'il puisse être question de la production de plusieurs spores, FIG. **40**—**42**. Dans

ces cas on se trouve en présence de la formation, aux dépens des sporontes, de plasmodies analogues à celles que nous avons rencontrées au début de l'évolution.

On rencontre aussi des sporontes qui se développent énormément avec ou sans division nucléaire, FIG. 43, 44. Enfin il existe des parasites logés dans le protoplasme fondamental, mais absolument analogues à des sporontes libérés du kyste sporal, FIG. 45; leur noyau croît progressivement jusqu'à atteindre l'aspect de la FIG. 46.

Ces observations conduisent à conclure :

1° que le sporonte peut dans le kyste secondaire donner naissance à des plasmodies et de la sorte régénérer le cycle;

2° que sorti du kyste secondaire le sporonte peut évoluer de même dans le protoplasme fondamental; ce processus, qui apparaît très probable par l'étude des préparations, ne pourrait pas être affirmé d'une façon irréfutable, si l'on ne connaissait pas les cas intermédiaires du 1°. On pourrait en effet confondre des sporontes avec des éléments uninucléés jeunes;

3° que le sporonte peut donner naissance à un individu uninucléé à noyau énorme qui se transforme probablement en plasmodie par multipartition simultanée. Nous n'avons pas observé cette transformation, ce qui s'explique par la rareté des stades en question; mais on peut déduire cette conclusion avec grande probabilité par ce qui fut observé dans des espèces voisines *(Glugea gigantea* et *Glugea danilewskyi).*

IV. Les noyaux hypertrophiés et le protoplasme fondamental.

Il existe de grands noyaux très variables, nombreux dans la zone moyenne de la tumeur. Ils sont surtout abondants à la limite de la zone externe et moyenne, mais il y en a également qui sont logés beaucoup plus profondément. Ils plongent directement dans le protoplasme fondamental.

Ils sont d'aspect très variable; tantôt plus ou moins sphériques, petits ou grands, à réseau chromatique lâche et bien marqué, à un ou plusieurs globules nucléolaires, FIG. 2, 3; tantôt très irréguliers, ils paraissent étirés et sont presque déchiquetés en lambeaux allongés et entortillés, FIG. 1, 3. Le contenu nucléaire est dans ce dernier cas plus dense, finement réticulé, et il s'y trouve de nombreuses enclaves chromatiques de toutes dimensions; les limites nucléaires sont parfois fort vagues; les enclaves se rencontrent parfois isolées dans le protoplasme fondamental. Le dernier aspect répond parfaitement à l'image d'un noyau en dégénérescence FIG. 3, 48.

La dimension de ces noyaux est très variable ; ils sont parfois énormes, ils sont parfois tout petits, de la grandeur même des parasites uninucléés, dont il est fort malaisé de les distinguer. A ne regarder que ces stades petits, on pourrait admettre l'origine des noyaux hypertrophiés et des jeunes éléments parasitaires aux dépens de noyaux primitifs semblables (AWERINZEW, 10, WEISSENBERG, 13).

Comme l'a établi WEISSENBERG (13), en opposition avec AWERINZEW et FEMOR (10) et STEMPELL (04), les grands noyaux dégénèrent et n'ont aucun rapport avec la formation des sporontes.

Dans quelques préparations, on observe dans le protoplasme de la zone externe, de très petits granules chromatiques entourés d'une petite vacuole, FIG. 6 ; ils sont distincts des très nombreuses granulations qui se décolorent après différentiation convenable. Ils sont souvent au nombre de quatre réunis deux à deux par un filament à peine perceptible et disposés en croix ; d'autres fois ils sont à deux réunis par un filament unissant ; d'autres fois encore ils sont isolés ou bien ils sont groupés en nombre très variable et irrégulièrement disposés. Parfois, mais très rarement, ces amas chromatiques rappellent par leur disposition et en petit les divisions nucléaires du parasite FIG. 6.

La signification de ces éléments figurés contenus dans le protoplasme fondamental reste énigmatique. Nous avons cru longtemps qu'il fallait les regarder comme donnant naissance aux grands noyaux hypertrophiés, et même aux noyaux parasitaires proprement dits. Il faudrait en ce cas les considérer comme des chromidies ; mais les cas de formation chromidiale des noyaux que nous connaissons ne ressemblent guère à ce que nous voyons ici ; puis d'une part les agglomérats de granules sont si irréguliers et si variables, et d'autre part leur existence est si inconstante qu'il nous paraît impossible d'admettre qu'ils donnent naissance à des noyaux de structure simple et constante. Si ces granules chromatiques ont un rapport quelconque avec les noyaux des kystes, ils représentent peut-être les derniers stades de leur désagrégation. Cette hypothèse explique et leur variabilité et leur inconstance.

V. Tumeurs d'aspect différent.

Nous n'avons considéré jusqu'à présent qu'un seul type de tumeur, celui de la tumeur en voie d'accroissement normal, renfermant les éléments parasitaires en pleine évolution.

Il nous faut parler maintenant des tumeurs jeunes et des tumeurs en dégénérescence.

Tumeurs jeunes.

Nous n'avons pas eu la chance de découvrir les premiers aspects de développement de la tumeur. La plus jeune que nous ayons observée mesure environ 70 μ, la FIG. 53 en reproduit à peu près la moitié. Elle est logée à côté de deux tumeurs plus grandes mais complètement indépendantes et le fait qu'elle ne contient que des stades tout jeunes du parasite prouve qu'elle est au début de sa formation. Elle est plus petite que la jeune tumeur observée par WEISSENBERG (13) et elle en diffère essentiellement.

Cet auteur observe une limite très nette entre la tumeur et le tissu conjonctif, et il en conclut à la nature plasmodiale de la membrane future; nous observons au contraire que la limite de la tumeur est vague et que la membrane, qui apparait déjà très mince, se continue en entier avec des travées du tissu conjonctif, FIG. 53ˣ.

WEISSENBERG observe des noyaux végétatifs jeunes (Primärkerne) et des plasmodies jeunes (Primärschläuche), dont il fait deux éléments nettement différents, quoique dérivant l'un de l'autre, et croit que les plasmodies binucléées pourraient provenir par fusion de deux « Primärschläuche » uninucléés; nous observons ces même éléments, mais ne voyons entre eux d'autre différence que celle qui distingue deux stades successifs de la multiplication végétative.

Enfin WEISSENBERG ne voit pas de noyaux hypertrophiés, mais des travées plus denses du réseau fondamental chargées de granules chromatiques, qui dérivent, dit-il, des « Primärkerne » et donneront plus tard des noyaux hypertrophiés. Nous voyons au contraire des noyaux hypertrophiés nombreux, parfaitement formés.

Nous aurons l'occasion de revenir sur ces observations dans la seconde partie.

Tumeurs en dégénérescence.

Il existe de nombreuses formes de tumeurs à première vue très différentes des tumeurs normales. Leur étude comparée montre qu'elles se rattachent toutes au type habituel, dont elles ne sont que des aspects régressifs.

La régression de la tumeur peut se faire alors que la membrane enkystante est intacte, FIG. 48. Dans ce cas les divers stades jeunes du para-

site n'existent plus, ou tout au moins n'apparaissent pas n'étant pas électifs pour les colorants. Il existe de petites masses de protoplasme plus ou moins isolées — des reliquats de plasmodies, — qui sont sans noyaux ou à nombreux petits granules; parmi elles il y a de grands noyaux hypertrophiés, dont le contenu est morcelé en très nombreux granules chromatiques.

Dans d'autres cas la membrane a éclaté (cas de la FIG. 47) ou est partiellement résorbée (cas de la FIG. 49) et le kyste plus ou moins vidé de son contenu possède une paroi affaissée, FIG. 47. La membrane elle-même, qui à certaines places est normale, est ailleurs très dilatée, fibrillaire, vaguement limitée par rapport au conjonctif voisin; et tandis que des cellules conjonctives se rencontrent dans l'épaisseur de la membrane, il y a d'autre part des faisceaux de fibrilles de la membrane qui se perdent dans le tissu conjonctif, FIG. 47. Enfin dans certaines tumeurs la membrane a complètement disparu et le kyste est limité par une épaisse paroi conjonctive, FIG. 51.

A l'intérieur de ces tumeurs en régression existent de très nombreuses cellules conjonctives et des leucocytes, FIG. 47, 50, 51; le fait que ces éléments appartiennent à l'hôte est démontré par ce que leur noyau se divise par cinèse de métazoaire, FIG. 51, *f*. Dans les tumeurs existent encore des reliquats de noyaux hypertrophiés bien reconnaissables, FIG. 50 *b*, et de nombreux éléments en dégénérescence, de nature douteuse, produits kystiques ou leucocytes FIG. 47, *c*, 50, *a*. Il existe encore et surtout des produits kystiques divers en voie de phagocytose; il est difficile parfois de les identifier, mais les spores phagocytées se reconnaissent à première vue, FIG. 47, *e*, 51, *e*, 52.

Bref, dans ces derniers cas on se trouve en présence de tumeurs éclatées ou à membrane résorbée; leur contenu est partiellement évacué, partiellement il dégénère sur place; la cavité de la tumeur est envahie par du tissu conjonctif et par des leucocytes qui phagocytent les éléments kystiques restés à l'intérieur de la membrane.

B. DISCUSSION.

I. Tumeurs en dégénérescence.

WEISSENBERG (13) a déjà observé des tumeurs en dégénérescence et constate que plusieurs des aspects dessinés par STEMPELL (04) et interprétés

comme reformation de nouveaux noyaux ne sont en réalité que des aspects de phagocytose. Nous partageons complètement cette façon de voir et croyons qu'il n'est pas superflu de l'appuyer par la comparaison des dessins de Stempell et des nôtres.

Stempell (04) décrit des tumeurs dont la membrane enkystante est résorbée sous l'action du protoplasme intérieur. Il y observe des noyaux d'aspect très divers, analogues à ceux de nos fig. 50—52. Il les considère tous comme parasitaires. Les noyaux hypertrophiés se désagrégeraient en granules chromidiaux, puis par recondensation de ces chromidies, fig. 50, *a* et 51, *a*, il y aurait formation de nouveaux noyaux isolés dans une petite masse protoplasmique ou réunis dans une plasmodie, fig. 50, *b* et 51, *b*. Ces nouveaux noyaux s'accroissent, fig. 47, *c* et 51, *c*, et de nouveau par expulsion de petits granules, fig. 47, *d* et 51, *d*, donnent des sporoblastes et des spores. Mais les noyaux *c* ne disparaissent pas lorsqu'ils produisent des spores et restent accolés au sporonte, fig. 52, 47, *e* et 51, *e*. Ils persistent comme « noyaux végétatifs »; c'est une des preuves de leur nature parasitaire. Awerinzew et Femor (11) confirment — assez vaguement d'ailleurs — la façon de voir de Stempell.

A première vue cette conception parait baroque; après l'étude de quelques préparations elle devient insoutenable.

Le seul point exact, c'est que la membrane enkystante de la tumeur ou bien se déchire ou bien est résorbée. Il faut ne jamais avoir comparé les noyaux qui existent dans ces tumeurs avec les noyaux-hôtes voisins pour nier leur identité; il ne faut pas regarder bien attentivement les aspects de noyaux grumeleux et granuleux, fig. 47, 50, 51, *a*, *b*, *d* et fig. 35 à 48 de Stempell, pour y reconnaitre des aspects de dégénérescence. L'existence de noyaux-hôtes à l'intérieur des tumeurs en dégénérescence est prouvée par le fait que l'on en rencontre en cinèse, fig. 51, *f*. Le rôle phagocytaire de ces cellules est évident, fig. 47, 51, *d*, *e*, 52, et fig. 111 à 114 de Stempell.

II. La membrane.

Autour du kyste, tel qu'il apparaît dans la grande majorité des cas, se trouve une membrane non cellulaire assez épaisse, fig. 1, 2, 5. Observée par la plupart des auteurs qui ont étudié cette espèce, elle est regardée par eux comme dérivée de la tumeur (Stempell, 04, Weissenberg, 13); « elle semble même représenter l'ectoplasme » (Thélohan, 95); « sans nier toutefois que dans certains cas le tissu conjonctif puisse produire autour

de la masse parasitaire une sorte de membrane » (THÉLOHAN, 90). Par contre dans le *Glugea stephani*, HAGENMÜLLER, 99, observe une membrane enkystante qui résulte d'après lui de la réaction de l'organisme, et PÉREZ, 05, note « une mince enveloppe conjonctive réactionnelle appartenant à l'hôte » autour des kystes de *Glugea stempelli*.

Deux hypothèses existent donc en ce qui concerne l'origine de la membrane kystique; l'une et l'autre sont soutenables; ni l'une ni l'autre n'est prouvée, les arguments n'étant pas décisifs.

La formation de la membrane aux dépens de la tumeur s'appuie sur :

1° La colorabilité de la membrane (STEMPELL, 04); mais WEISSENBERG constate que la Pikrofuchsine et que la méthode de CALLEJA colorent la membrane comme la substance collagène conjonctive.

Nous observons nous-même que *a)* la fuchsine acide et l'orcéine (deux colorants considérés comme spécifiques) et le bleu de méthylène polychrome réagissent exactement de même sur la membrane kystique et sur la substance connective du tissu conjonctif. *b)* Le picro-indigo-carmin de BORREL donne la même coloration vert-bleu à la membrane et à la substance connective là où celle-ci est épaissie en gros faisceaux. *c)* L'hématoxyline est énergiquement fixée par la membrane comme par le tissu conjonctif modifié adjacent à la tumeur. *d)* Le Giemsa colore tout différemment la membrane et les tissus voisins, quand une rétraction ou une déchirure rend la membrane libre et facilement pénétrable ; mais dans les mêmes préparations, là où la membrane reste adjacente aux tissus, le colorant réagit comme en *c*.

2° Le fait que les jeunes tumeurs sont à protoplasme nettement limité sans membrane (WEISSENBERG, 13). Le fait par lui-même ne prouve pas grand chose ; et d'ailleurs nous constatons dans les tumeurs jeunes, FIG. 53, que le protoplasme n'est pas nettement limité ; qu'il existe une mince membrane et que par place elle se continue en entier avec les travées conjonctives.

3° Le fait qu'il existe tout près de la membrane des inclusions réagissant presque comme la membrane elle-même et qui sont sans doute de même nature (STEMPELL, 04, WEISSENBERG, 13). Mais rien ne prouve que ces inclusions soient produites sur place; elles peuvent naître et naissent parfois par invagination de la paroi, et dans ce cas leur existence n'est démonstrative ni en un sens ni dans l'autre.

La formation de la membrane aux dépens du tissu de l'hôte s'appuie sur :

1° L'aspect du tissu conjonctif au voisinage de la tumeur, où il acquiert un aspect particulier; les cellules plus petites sont plus tassées les unes contre les autres; la substance connective est *plus colorable* dans cette zone.

2° L'aspect de la membrane, qui est de structure feuilletée; sa limitation par rapport au protoplasme kystique est toujours nette, tandis que des fibrilles se prolongent dans le tissu conjonctif, FIG. 5, 47, 53ˣ. Lorsque, par l'action des réactifs, le kyste se rétracte légèrement, la déchirure se fait entre le protoplasme kystique et la membrane; cette dernière reste généralement unie au tissu conjonctif.

Bref, l'origine de la membrane kystique chez *Glugea anomala* n'est pas établie et il ne nous parait pas probable qu'elle puisse l'être par l'étude de cette espèce; cependant nous verrons plus loin que nous considérons les tumeurs comme formées de cellules-hôtes hypertrophiées et parasitées; la question de l'origine de la membrane se réduirait donc à savoir si elle est formée par les cellules-hôtes parasitées ou par les cellules-hôtes saines voisines. Cette façon de poser la question lui enlève presque tout intérêt.

III. Les noyaux hypertrophiés.

a) Leur destinée.

D'après STEMPELL (04), les noyaux hypertrophiés donneront directement naissance aux noyaux de sporonte et le protoplasme du sporonte provient d'une partie du noyau végétatif, dont une autre partie reste intacte. AWERINZEW et FEMOR (11) confirment et précisent cette façon de voir. Voyez également HESSE (05), PEREZ (05, 08), STRICKLAND (13).

WEISSENBERG (13) établit la fausseté de cette interprétation; nous ne pouvons que confirmer sa façon de voir, et nous avons dit plus haut à propos des tumeurs en dégénérescence quelle est l'origine des erreurs d'interprétation de STEMPELL.

b) Leur origine.

D'après STEMPELL (04), les noyaux hypertrophiés sont des noyaux végétatifs du parasite; d'après AWERINZEW et FEMOR (11), les petits noyaux de la périphérie de la tumeur donneraient directement les grands noyaux hypertrophiés; ils pourraient aussi dégénérer et se désagréger; d'après WEISSENBERG (13), les petits noyaux (Primärkerne) donneraient de petits amas chromatiques très irréguliers, plongeant dans du protoplasme con-

densé et soit directement soit en confluant ils donneraient les grands noyaux hypertrophiés. D'après tous ces auteurs, les noyaux hypertrophiés seraient des noyaux végétatifs du parasite lui-même.

Cette interprétation nous paraît fantaisiste.

Nous avons vu qu'il existe des noyaux hypertrophiés de toutes dimensions et que les plus petits se confondent avec les individus uninucléés du parasite. A en juger uniquement d'après les préparations, il est possible que les petits noyaux primitifs évoluent les uns pour donner des plasmodies, des sporontes et des spores, les autres pour donner directement des noyaux hypertrophiques (Awerinzew). Mais nous ne concevons pas que les noyaux primitifs se résolvent en grumaux chromatiques informes et que secondairement ils donnent avec du protoplasme condensé des noyaux aussi parfaits que les noyaux végétatifs (fig. 2, fig. 3 de Weissenberg). Ce que Weissenberg considère comme ébauche des noyaux hypertrophiés nous semble être des produits de désagrégation de ces mêmes noyaux, fig. 2 en bas et à droite, fig. 3 à droite, fig. 11 et 36 de Weissenberg) et c'est le cas de ses préparations à en juger d'après le peu de détails qu'il observe dans les noyaux jeunes. Le grand argument de Weissenberg, c'est que dans une tumeur de 80 μ il ne voit que ces granulations irrégulières; or nous avons dit plus haut que dans une tumeur de 70 μ il existe des quantités de noyaux hypertrophiés parfaitement formés.

Par le seul examen des petits noyaux il serait donc possible de croire que les noyaux hypertrophiés proviennent par accroissement des noyaux parasitaires; mais il existe une autre interprétation qui cadre beaucoup mieux avec ce que l'on sait des microsporidies, et à laquelle nous nous rallions : les noyaux hypertrophiés de toutes dimensions seraient des noyaux provenus d'une (ou peut-être de plusieurs) cellules-hôtes envahies par le parasite. Devenu irrégulier et ramifié, ce noyau se multiplie par étranglement et bourgeonnement; certains fragments devenus très petits et très simples ne peuvent être distingués des noyaux parasitaires, très simples aussi ; d'autres dégénèrent, d'autres se réduisent de plus en plus et finalement dégénèrent à leur tour.

Ce qui nous fait admettre cette façon de voir c'est que :

1° L'existence de noyaux parasitaires végétatifs n'est démontrée pour aucune microsporidie, et d'autre part la nature hôte des noyaux hypertrophiés est dans bien des cas nettement établie. Korotneff (92) la décrit, en un mémoire remarquablement concis, chez le *Myxosporidium bryzoïdes,* et il appuie sa thèse par des dessins très démonstratifs. Mrazek (10) observe

dans les tumeurs de *Myxocystis* des noyaux hypertrophiés absolument semblables à ceux que nous observons ici et établit d'une façon certaine leur nature lymphocytaire; ce qui donne plus de valeur encore à sa thèse, c'est qu'elle contredit sa façon de voir antérieure (MRAZEK, 97). Nous avons nous-même observé la présence de grands noyaux analogues à ceux que nous rencontrons ici et provenant incontestablement de l'hôte, dans les tumeurs à microsporidies des larves de *Simulium* (DEBAISIEUX, 13, DEBAISIEUX et GASTALDI, 15). Dans ces cas les noyaux-hôtes hypertrophiés sont excessivement polymorphes. Cette façon de voir est soutenue également par MERCIER (08), SCHRÖDER (09) et SCHUBERG (10).

2° Les noyaux hypertrophiés se comportent comme des noyaux anormaux; ils sont très polymorphes, dégénèrent dans les tumeurs âgées, et leur état ne paraît pas être en relation avec le degré de développement de la tumeur ni avec le développement des parasites.

IV. Les divisions nucléaires.

Les divisions nucléaires apparaissent toutes semblables, qu'elles appartiennent au cycle de multiplication végétative ou au cycle de la sporogonie.

A la prophase, il existe deux petits granules disposés aux pôles et unis par une mince travée peu colorable, FIG. **8**, **22**. A en juger d'après certains aspects spécialement nets de la sporogonie, FIG. **23**, et par l'évolution ultérieure de la mitose, chacun de ces granules et la travée unissante sont de bonne heure dédoublés.

Au moment de l'anaphase les éléments chromatiques se portent aux pôles, coulent le long des deux travées conductrices, FIG. **9**, **24**, et à la télophase les noyaux-filles, formés de deux masses bien distinctes, restent unis assez longtemps par les deux filaments chromatiques. Ceux-ci portent souvent un ou deux granules chromatiques intermédiaires, FIG. **10**, **14**, **15**, **25—27**. Il existe souvent des aspects de fuseau, FIG. **3**, **13**, **22**, **23**, mais il n'existe pas de différence essentielle entre les mitoses à apparence de fuseau et les autres; toutes deux se rencontrent lors des divisions végétatives et lors des divisions sporogoniales; la différence d'aspect est probablement due uniquement à l'action plus ou moins parfaite des fixateurs.

Nous avons vainement cherché des divisions doubles, des divisions de diplocarya, analogues à celles qui existent chez les *Plistophora* et les *Glu-*

gea du *Simulium* (DEBAISIEUX et GASTALDI, 15), et à celles décrites par SWARCZEWSKY (15), et reproduites dans ses fig. 30 et 75. Parfois on croirait voir l'ébauche d'une pareille division fig. 17, mais l'interprétation de cet aspect est fort douteuse, et la division ne s'achève pas. D'autre part, toutes les divisions se font sur des noyaux plus ou moins dédoublés (DEBAISIEUX et GASTALDI, 15), et toutes sont analogues à celles dessinées par SWARCZEWSKY dans ses fig. 31—40 et 76 à 79.

THÉLOHAN (65), le premier, a observé une division sporogoniale chez le *Glugea anomala;* STEMPELL (04) ne dessine pas de divisions nucléaires; AWERINZEW et FEMOR (11) observent une seule division végétative (sporogoniale d'après eux), enfin WEISSENBERG (13) observe, sans en remarquer les détails et sans leur attribuer leur vraie signification, des mitoses végétatives et une sporogoniale.

SWARCZEWSKY (14) observe, dans des espèces voisines, des divisions doubles lors de la sporogonie et simples lors des divisions végétatives. Cette description, qui faciliterait beaucoup l'interprétation, ne se vérifie malheureusement pas dans le *Glugea anomala.* Nous avons nous-même (15) observé des divisions absolument analogues à celles qui existent ici dans deux autres espèces de *Glugea.*

V. Le cycle d'évolution.

Le cycle d'évolution du *Glugea anomala* est analogue à celui que nous avons décrit et discuté en détail (15) pour le *G. danilewskyi* et le *G. mülleri;* on rencontre dans l'espèce étudiée ici quelques stades plus clairs et certaines modalités spéciales.

Nous ne croyons pas à l'existence d'un „ myxosporidium „ ou d'un „ trophozoïte „ à noyaux bourgeonnants; on a vu plus haut que les noyaux hypertrophiés sont très probablement des noyaux-hôtes; ils sont en tout cas sans relation avec le cycle d'évolution du parasite.

La multiplication végétative du parasite se fait par divisions nucléaires successives et aboutit à la formation de plasmodies; par cloisonnement elles se résolvent en individus contenant chacun un des noyaux de la plasmodie. Ce noyau est nettement double et le diplocaryon est autogamique au premier degré, car il n'y a pas trace d'accolement de deux noyaux lors de la résolution de la plasmodie. Le diplocaryon se transforme probablement en un noyau zygotique unique et se divise. Le zygote donne deux sporoblastes qui se transforment en spores. La formation de deux spores

aux dépens du zygote est caractéristique du genre *Glugea*, dont nous étudions ici le type. Des sporontes peuvent se transformer en stades végétatifs et régénérer le cycle; ce processus constitue un mode de réinfection au sein même de la tumeur.

Nous avons longuement discuté ailleurs (15) le détail de la formation des spores; les observations faites sur cet objet ne font que confirmer notre façon de voir; nous n'y reviendrons pas.

L'existence d'un processus de fécondation entre le moment de la résolution des plasmodies et celui de la formation des sporoblastes est établi par :

1° Le fait que des noyaux nettement doubles, FIG. **20**, **21**, se divisent par une mitose unique, FIG. **22—24**;

2° le fait qu'entre les divisions végétatives et la division sporogoniale il existe une longue période de transformations nucléaires inexplicable si la dernière division a la même signification et la même valeur que les premières;

3° la comparaison avec le *Glugea danilewskyi* et le *Glugea mülleri* et surtout avec les microsporidies des larves de *Simulium*.

Deux autres hypothèses concernant le moment de la fécondation pourraient être soutenues et demandent à être discutées :

1° On pourrait nier tout processus de fécondation; se basant sur le fait que le dédoublement nucléaire — le diplocaryon — observé, FIG. **20**, **21**, ressemble à celui qui existe aux télophases végétatives, FIG. **12**, et que les divisions sporogoniales, FIG. **22—29**, ressemblent aux divisions végétatives, FIG. **13—15**, on dirait : par multiplication nucléaire naissent des plasmodies; celles-ci se résolvent en individus uninucléés et la succession des divisions continuant, chaque individu uninucléé en donne deux qui se transforment en spores (WEISSENBERG, 13).

Mais il faut remarquer que le stade diplocaryon, FIG. **20**, **21**, ne peut pas être comparé à une télophase, étant très éloigné de toute division nucléaire; ensuite cette façon de voir ne rend pas compte de la raison d'être de la longue période que traversent les noyaux entre les dernières divisions végétatives et la division sporogoniale; et l'on ne comprendrait pas pourquoi les divisions végétatives cesseraient dans la plasmodie pour reprendre une fois encore après isolement des individus-filles. Or, l'étude d'autres microsporidies montre que c'est précisément à ce moment qu'a lieu la formation de la copula ou du diplocaryon (SWELLENGREBEL, 11, SWARCZEWSKY, 14, DEBAISIEUX, 15, DEBAISIEUX et GASTALDI, 15); voyez également CAULLERY

et MESNIL, 05) ; d'autre part la ressemblance des mitoses végétatives et des sporogoniales et l'existence du diplocaryon avant la fécondation sont établies pour d'autres microsporidies (DEBAISIEUX, 15, DEBAISIEUX et GASTALDI, 15).

2° D'après SWARCZEWSKI (14), les divisions végétatives seraient suivies de la formation d'une copula (diplocaryon autogamique d'après SWELLENGREBEL, 12). Il n'y aurait pas formation de zygote, mais une mitose de maturation (que nous considérons comme sporogoniale) diviserait la copula en deux copulas-filles, dont l'une donnerait l'appareil d'éclatement de la spore et l'autre par fusion de ses deux moitiés donnerait le noyau unique de la spore mûre ou du germe amiboïde.

Remarquons d'abord que les deux noyaux-filles de la division ont même valeur et donnent certainement chacun un noyau de spore. Il reste alors en faveur de l'hypothèse de SWARCZEWSKI, que la division nucléaire paraît double et a un aspect réductionnel, et que le noyau de la spore est double lors de la formation, FIG. 30, et ne devient unique qu'un peu plus tard, FIG. 31. Mais toutes les divisions végétatives paraissent doubles et tous les noyaux-filles en télophase sont doubles, et cela enlève toute valeur aux arguments de SWARCZEWSKI. De plus, si l'on considère ce qui se passe lors de la sporogonie des *Thélohania*, par exemple, on observe que dans ce genre il y a trois divisions sporogoniales successives ; toutes trois paraissent doubles et les noyaux-filles sont formés de deux masses chromatiques élémentaires qui se confondent en un seul noyau à chacune des trois périodes de repos. Il n'est donc pas question pour le *Thélohania* de divisions réductionnelles ni de fécondation dans la spore : chez le *Glugea* les phénomènes sont les mêmes, mais au lieu de trois divisions sporogoniales donnant huit sporoblastes, il n'y a qu'une division sporogoniale qui donne deux sporoblastes.

Ne pouvant admettre aucune de ces deux hypothèses et nous basant sur les arguments donnés plus haut, nous considérons que les stades qui se placent entre les divisions végétatives et la division sporogoniale appartiennent à un processus de fécondation qui est une autogamie au premier degré.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1. Le genre *Glugea* est caractérisé par la formation de deux spores aux dépens du zygote.

2. Le cycle suivant lequel le *Glugea anomala* évolue dans les tumeurs du *Gasterosteus* débute par une période de multiplication végétative qui donne des plasmodies; celles-ci se résolvent en diplocarya, qui se transforment probablement en zygote. Le zygote se divise par une division sporogoniale en deux sporoblastes, qui se transforment en spores.

3. La fécondation est autogamique par pædogamie au premier degré.

4. Des sporontes peuvent se transformer en stades végétatifs et régénérer le cycle.

5. Les noyaux hypertrophiés de la tumeur sont voués à la dégénérescence et proviennent très probablement des noyaux-hôtes.

6. L'origine de la membrane kystique soit aux dépens de la tumeur, soit aux dépens des tissus voisins, est douteuse; mais la tumeur étant très probablement formée de cellules-hôtes parasitées et hypertrophiées, la membrane serait en tout cas produite par du tissu-hôte et non par les parasites.

BIBLIOGRAPHIE.

1911 *Awerinzew* et *Femor* : Sporenbildung bei *Glugea anomala*; Arch. f. Protist., t. 23.

1905 *Brasil* : Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées; Arch. Zool. ex. et g., 4e série, t. 4.

1893 *Braun* : Berichte über tierische Parasiten, II; Centr. Bakter., Orig., t. 13.

1905 *Caullery* et *Mesnil* : Recherches sur les Haplosporidies; Arch Zool. ex. et g., 4e série, t. 4.

1913 *Debaisieux* : Microsporidies parasites des larves de *Simulium*; La Cellule, t. 30.

1915 » : Études sur les microsporidies. *Glugea danilewskyi* et *G. mülleri*; La Cellule, t 30.

1915 *Debaisieux* et *Gastaldi* : Microsporidies des larves de *Simulium*, II; La Cellule, t. 30.

1909 *Doflein* : Lehrbuch der Protozoenkunde; Iena, Fischer.

1838 *Gluge* : Notice sur quelques points d'*anatomie pathologique* comparée, suivie de quelques observations sur la structure des branchies dans les Épinoches; Bull. Ac. R. Belg., t. 5.

1893 *Gurley* : On the classification of the *Myxosporidia*; Bull. U. S. Fisch. Comm., t. 11.

1899 *Hagenmüller* : Sur une nouvelle myxosporidie, *Nosema stephani*, parasite de *Flessus passer*; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 129.

1905 *Hesse* : *Myxocystis mrazeki*; C R. Soc. Biol., t. 57

1892 *Korotneff* : *Myxosporidium bryzoïdes*; Z. wiss. Zool, t. 53.

1899 *Labbé* : *Sporozoa*; Das Tierreich. Berlin, Friedländer.

1908 *Mercier* : Néoplasies du tissu adipeux chez les Blattes parasitées par une microsporidie; Arch. f. Protist., t. 11.

1912 *Minchin* : An introduction to the study of the Protozoa; London, Arnold.

1887 *Moniez* : Observations pour la révision des microsporidies; C. R. Ac. Sc., Paris, t. 104.

1897 *Mrazek* : Ueber eine neue Sporozoenform aus *Limnodrillus*; Sitz. Ber. der Gesell. Wiss. Prag.

1910 : Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Myxocystiden; Arch. f Protist., t. 18.

1857 *Nägeli* : Ueber die neue Krankheit der Seidenraupe und verwandte Organismen; Bot. Zeitg., t. 15.

1912 *Ohmori* : *Nosema bombycis*; Arb. kais. Gesundheitsamt, t. 40.

1905 *Pérez* : Sur une Glugéide nouvelle parasite de *Balanus amaryllis*; C. R. Soc. Biol, t. 57.

1908 : *Duboscqia legeri*; C. R. S. Biol., t. 65.

1909 *Schröder* : *Thélohania chætogastris*; Arch. f. Protist., t. 14.

1910 *Schuberg* : *Microsporidien* aus dem Hoden der Barbe; Arb. kais. Gesundheitsamt, t. 33.

1904 *Stempell* : Ueber *Nosema anomalum Monz.*; Arch. f. Protist., t. 4.

1910 » : Morphologie der Microsporidien; Zool. Anz., t. 35.

1913 *Strickland* : Further observations on the parasites of *Simulium* larvæ; J. of Morphology, t 24

1914 *Swarczewsky* : Ueber den Lebencyclus einiger Haplosporidien; Arch. f. Protist., t. 33.

1912 *Swellengrebel* : The life history of *Plistophora gigantea*; Parasitology, t. 4.

1890 *Thélohan* : Contribution à l'étude des Myxosporidies; Ann. de Micrographie, t. 2.

1891 » : Sur deux protozoaires nouveaux parasites des muscles de poisson; C. R. Soc. Biol., t. 43.

1892 » : Note sur le *Glugea microspora*; C. R. Soc. Biol., t. 44.

1895 » : Recherches sur les Myxosporidies; Bull. Sc. France et Belgique, t. 26.

1913 *Weissenberg* : Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien *Glugea anomala* und *Glugea hertwigi*; Arch. f. mikrosk. Anat., II, t. 82.

EXPLICATION DES FIGURES.

La combinaison optique (ZEISS) *employée pour tous nos dessins fut l'objectif* 1,5 *mm. et l'oculaire* 18 *(grossissement linéaire* 3000*). La projection fut faite au niveau de la platine du microscope par le prisme* NACHET.

FIG. **1**. Partie périphérique du kyste. En dehors de la membrane un globule rouge. La membrane nettement feuilletée; la zone de protoplasme fondamental est moins dense à la périphérie. La zone moyenne contient de nombreux noyaux hypertrophiés la plupart irréguliers et des éléments parasitaires jeunes à différents stades d'évolution. Fix. sublimé-alcool.

FIG. **2**. Partie périphérique du kyste. En dehors de la membrane un noyau conjonctif. La membrane est de structure uniforme et la zone de protoplasme fondamental régulièrement alvéolaire. La zone moyenne contient de nombreux noyaux hypertrophiés sphériques, un seul irrégulier, et des éléments parasitaires jeunes. Vers le centre de la tumeur, sporoblastes et spores dans des kystes sporaux. Fix. BOUIN.

FIG. **3**. Partie de la tumeur comprenant les zones externe et moyenne. Un grand noyau hypertrophié globuleux à trois éléments nucléolaires; d'autres irréguliers en dégénérescence. Parasites uninucléés et paucinucléés en division. Fix. ZENKER.

FIG. **4**. Zone moyenne de la tumeur. Parasites uninucléés et plasmodies boudinées montrant de nombreuses divisions nucléaires. Stades de sporogonie et spores contenues dans des kystes sporaux. Fix. ZENKER.

FIG. **5**. La membrane kystique. Nettement limitée du protoplasme kystique, elle est très chromatique à sa partie centrale, tandis qu'elle est moins chromatophile et de structure feuilletée à sa partie périphérique. Les assises externes se confondent avec les faisceaux de différentiation conjonctive. Deux noyaux conjonctifs. Fix. BRASIL.

FIG. **6**. Différents aspects des granules chromatiques qui existent parfois dans la zone externe de la tumeur. Ces granules sont groupés de façon très variable; parfois, mais très rarement, ils rappellent en petit les divisions nucléaires des parasites jeunes. Fix. BRASIL.

FIG **7** Parasite uninucléé. Fix. BOUIN.

FIG. **8**. Aspect de la division nucléaire dans un parasite uninucléé; premier stade Fix. ZENKER

FIG. **9**. Aspect de la division nucléaire dans un parasite uninucléé. Anaphase. Fix. Bouin.

FIG. **10**. Idem. Plus avancé. Fix. Brasil.

FIG. **11—12**. Idem. Télophases et isolement des individus-filles. Fix. Zenker.

FIG. **13**. Plasmodie boudinée contenant de nombreux noyaux en division. Fix. Bouin.

FIG. **14—15**. Idem Anaphases. Fix. Brasil.

FIG. **16**. Plasmodie globuleuse, dérivée des précédentes Noyaux au repos. Fix. Zenker.

FIG. **17—18**. Idem. Début de cloisonnement du protoplasme, plusieurs noyaux sont nettement doubles. Fix. Zenker.

FIG. **19**. Idem. Le cloisonnement du protoplasme est plus avancé. Fix. Bouin.

FIG. **20**. Diplocarya isolés Fix. Bouin.

FIG. **21**. Idem. Fix. Brasil.

FIG. **22**. Premier aspect de division sporogoniale. Les sporontes sont renfermés dans le kyste sporal. Fix. Brasil.

FIG. **23**. Idem. Dans l'un des sporontes on voit nettement deux granules directeurs à chaque pôle et deux filaments unissants. Fix sublimé-alcool.

FIG. **24**. Divisions sporogoniales; anaphase. Fix. Bouin.

FIG. **25—26**. Idem; apparition de deux plages chromatiques dans le protoplasme. Fix. Bouin.

FIG. **27**. Idem. Un sporonte anormal à deux noyaux en division. Fix. Bouin.

FIG. **28**. Divisions sporogoniales. Télophase. Fix. Bouin.

FIG. **29**. Les deux sporoblastes se séparent. Fix. Bouin.

FIG. **30**. Sporoblastes; quelques-uns à noyau encore dédoublé. Fix. Bouin.

FIG. **31**. Sporoblastes. Plages chromatiques dans le protoplasme. Fix. Bouin.

FIG. **32**. Sporoblastes à gros noyau unique. Fix. Brasil.

FIG. **33—35**. Différents stades de sporogonie. Fix. sublimé-alcool.

FIG. **36—37**. Spores mûres montrant une vacuole antérieure dans laquelle existent deux granules chromatiques unis l'un à l'autre; un disque médian de protoplasme; une vacuole postérieure dans laquelle, exceptionnellement, le filament spiralé est visible. Fix. sublimé alcool.

FIG. **38**. Spore dont le filament spiralé est dévaginé par l'action de la glycérine.

FIG. **39**. Divisions nucléaires évoluant excentriquement à l'intérieur de sporontes. Fix. Bouin.

FIG. **40**. Sporonte se transformant en plasmodies analogues à celles de la période végétative. Dans l'un d'eux division normale, dans l'autre deux divisions nucléaires. Fix. ZENKER.

FIG. **41—42**. Idem. Plus avancé. Fix. BOUIN.

FIG. **43**. Sporontes contenus dans le kyste sporal ; l'un deux considérablement développé. Fix. BOUIN.

FIG. **44**. Idem. Plusieurs sporontes très développés, l'un d'eux binucléé. Fix. BOUIN.

FIG. **45**. Sporontes libres dans le protoplasme fondamental. Leur noyau s'accroît progressivement. Fix. BRASIL.

FIG. **46**. Idem. Individu énorme à noyau très développé. Fix. BOUIN

FIG. **47**. Partie de tumeur éclatée, partiellement vidée de son contenu et envahie par du tissu conjonctif et par des leucocytes. Membrane à structure feuilletée à limite peu nette. *c*, leucocytes ou éléments kystiques en dégénérescence ; *d*, granules de dégénérescence ; *e*, spores phagocytées. Fix. ZENKER.

FIG. **48**. Partie de tumeur en dégénérescence. La membrane est normale ; un noyau hypertrophié à granules très fragmentés ; protoplasme fondamental assez colorable, granuleux ; stades parasitaires jeunes, granuleux, peu électifs pour les colorants. Fix. BOUIN.

FIG. **49**. Partie de tumeur en dégénérescence, à un stade plus avancé que le précédent. Membrane conservée seulement à certains endroits de la périphérie. Nombreuses spores et amas protoplasmiques granuleux irréguliers. Fix. BOUIN.

FIG. **50**. Partie de tumeur éclatée et envahie par du tissu externe. *a*, éléments parasitaires en dégénérescence ; *b*, reliquat des grands noyaux hypertrophiés. Fix. BOUIN.

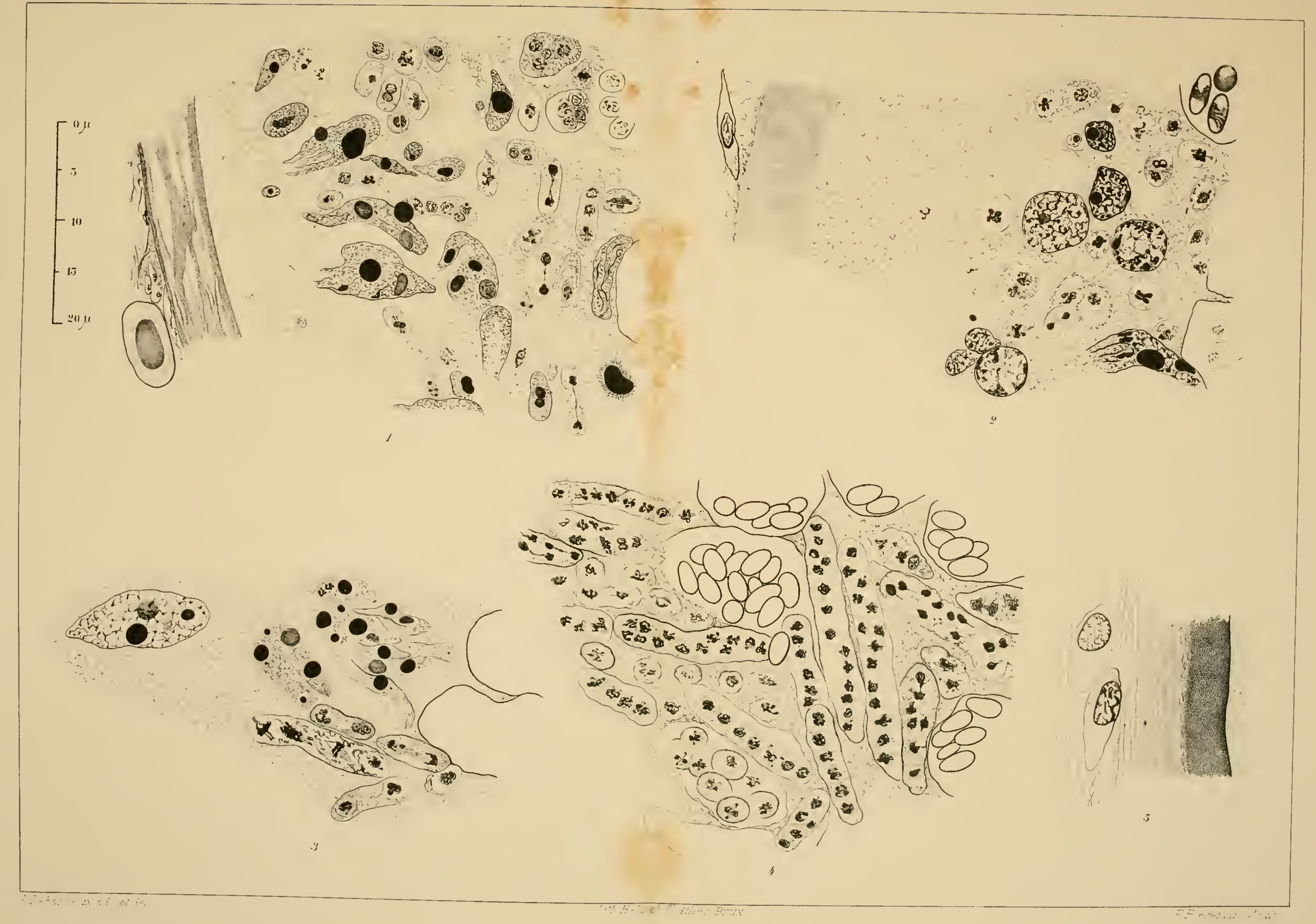
FIG. **51**. Partie de tumeur envahie par du tissu externe : *a*, éléments parasitaires en dégénérescence ; *b*, noyaux hypertrophiés en dégénérescence ou leucocytes ; *c*, éléments kystiques en dégénérescence ; *d*, granules ; *e*, spores en phagocytose ; *f*, cinèse d'un noyau de l'hôte. Fix. BOUIN.

FIG. **52**. Spores en phagocytose. Le noyau de la cellule phagocytante accolé aux spores. Fix. BOUIN.

FIG. **53**. Partie de tumeur jeune représentant à peu près la moitié de la coupe totale. Il n'existe pas encore de stades de sporogonie; les éléments parasitaires sont uninucléés ou en plasmodies paucinucléées. La membrane kystique, à certains endroits (×), se continue en entier avec les travées du tissu conjonctif.

TABLE DES MATIÈRES.

Planche I.





P Debaisieux ad nat. del. | Lith H J[illegible] St Gilles-Brux | F Biesemans Sculp



P. Debaisieux ad nat. del. [illegible] F. Fiesemans sculp.

Cœlomycidium simulii

NOV. GEN., NOV. SPEC.,

et remarques sur l'Amœbidium des larves de Simulium

PAR

Paul DEBAISIEUX,

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 25 décembre 1910.)

Cœlomycidium simulii

NOV. GEN., NOV. SPEC.,

et remarques sur l'Amœbidium des larves de Simulium

Dans un travail sur les microsporidies des larves de *Simulium* (Debaisieux et Gastaldi, 15), nous avons signalé que ces larves hébergent le parasite énigmatique découvert en Amérique par Strickland (13). L'étude que nous en avons faite nous conduit à créer pour lui un nouveau genre, *Cœlomycidium;* elle est loin de satisfaire toute notre curiosité, mais elle a donné, croyons-nous, tous les résultats actuellement accessibles.

Nous avons dit ailleurs (15) quelle est la provenance des larves de *Simulium (Melusina maculata* Meig., détermination probable) et quelles furent les méthodes employées pour l'étude de leurs parasites. Nous n'avons que quelques remarques à ajouter. L'étude du *Cœlomycidium* demande du matériel abondant, car le plus souvent chaque larve n'héberge qu'un seul stade mille fois répété du parasite, et elle exige du matériel récolté à toutes les saisons de l'année, car les aspects du parasite varient beaucoup d'une saison à l'autre. Pendant près de trois ans nous avons fait à la station des *Simulium* des pêches répétées. La dissection et la fixation des larves doivent être faites le plus tôt possible après leur récolte car les parasites dégénèrent rapidement, et il faut immerger la larve dans le fixateur dès qu'elle est incisée, car la plupart des stades parasitaires sont plasmolysés par le contact de l'eau.

La plupart de nos dessins sont faits d'après des préparations fixées à la liqueur de Bouin et colorées par l'hématoxyline de Heidenhain suivie d'un colorant protoplasmique; beaucoup d'autres fixateurs et colorants furent cependant employés. Les stades flagellés, libres dans l'eau, furent fixés sur porte-objet par l'acide osmique à 0,5 %, séchés et colorés à l'hématoxyline ou au Giemsa. Les préparations ainsi obtenues furent soigneusement contrôlées par l'étude sur le vivant et sur coupes.

I. PARTIE DESCRIPTIVE.

A. Aspect macroscopique et étude sur le vivant.

On trouve des larves de *Simulium* pendant presque toute l'année. A la fin de l'hiver et au printemps les individus adultes, ceux qui ont hiverné. sont assez rares; par contre on trouve sur les feuilles et les tiges immergées des amas d'œufs de plusieurs centimètres et des jeunes larves de 1 à 2 millimètres réunies en colonies compactes; pendant l'été et l'automne on en trouve à tous les stades de développement, les unes toutes jeunes, les autres transformées en nymphes; pendant l'hiver on trouve des larves complètement développées et des nymphes. Le fait que les larves vivent côte à côte en grand nombre, facilite la transmission de l'infection; les divers parasites libérés du corps d'une larve sont immédiatement ingérés par une autre.

La larve adulte mesure environ un centimètre de long; la région postérieure est un peu plus grosse que la partie antérieure; l'animal est légèrement transparent, de teinte grisâtre. Nous avons dit ailleurs (13, 15) que l'infection par diverses microsporidies se reconnait sur le vivant à ce que une ou plusieurs tumeurs limitées, blanc laiteux, gonflent et déforment la larve; elles sont plus ou moins visibles par transparence ou bien même forment une hernie franchement blanche à la surface du corps. L'infection par le *Cœlomycidium* se reconnait assez facilement à ce que la larve est uniformément et parfois considérablement dilatée, de teinte brunâtre dans les cas d'infection jeune, blanc gris dans les cas d'infection avancée ou d'infection d'hiver.

L'infection par le *Cœlomycidium* est généralement pure, mais elle peut coexister, à tous les stades de développement, avec des tumeurs de *Thélohania* ou de *Plistophora*.

1. Formes d'été.

Au printemps on trouve parfois dans la cavité générale de la larve des stades parasitaires mesurant 18 à 36 µ de diamètre, à protoplasme très transparent et contenant 1, 2 et jusqu'à 10 noyaux assez grands et bien visibles. Nous considérons ces stades comme étant de jeunes formes d'été. Ils peuvent être mêlés à d'autres stades du parasite.

Depuis la fin du printemps jusqu'au début de l'hiver on trouve exclusivement des formes toutes différentes. Dès avant l'ouverture de la larve on observe, par transparence et au microscope, des centaines de parasites

passivement mobiles à l'intérieur du corps par suite des contractions de l'hôte; à l'incision de la larve ces parasites s'échappent soit en amas, quand ils sont encore adhérents aux tissus de l'hôte, soit isolément quand ils sont déjà libérés dans les cavités de la larve. Ces parasites sont sphériques de dimension variable, ils peuvent atteindre et même dépasser 100 μ; ils sont à protoplasme finement granuleux sans zone périphérique distincte, FIG. 9. Il est à remarquer que ces parasites abandonnés dans l'eau s'altèrent rapidement; la plasmolyse intervenant ils se morcellent en masses secondaires; souvent une zone périphérique irrégulière hyaline se forme avant le morcellement du parasite.

A un stade plus avancé chaque parasite contient, à l'intérieur d'une membrane à peine visible, des milliers de parasites-filles individualisés FIG. 10, qui souvent se meuvent d'une façon saccadée et oscillante. Quand ces gros parasites entrent en contact avec l'eau, la plupart crèvent, soit immédiatement soit après quelques minutes, le contenu est expulsé en une colonne compacte dans laquelle on observe un fourmillement rapide, puis tous les parasites-filles se disséminent dans le liquide ambiant. A peine libérés, ils sont agités de mouvements oscillatoires saccadés, sans changement de place, dus à des détentes successives d'un flagellum; puis bientôt, quand le flagellum est libéré, FIG. 28, il y a mouvement de translation rapide.

Parfois les germes flagellés sont déjà libérés à l'intérieur de la larve et s'éparpillent dès qu'on incise celle-ci. Parmi les larves abandonnées dans un cristallisoir, avec de l'eau fraiche, quelques-unes éclatèrent spontanément, laissant échapper un nuage laiteux formé de germes flagellés.

2. Formes d'hiver.

a) Pendant tout l'hiver, dès que l'on incise des larves parasitées, il s'en échappe des centaines de parasites sphériques opaques mesurant 18 à 180 μ de diamètre; ils sont très finement granuleux, entourés d'une mince zone hyaline qui n'est pas nettement séparée du centre granuleux. Quelques parasites — parfois beaucoup dans un même hôte — possèdent une zone périphérique hyaline très épaisse mesurant le quart ou même la moitié du rayon total, et nettement séparée du contenu granuleux dans lequel existent des corpuscules réfringents, FIG. 46, 47. Il existe parfois des amas de 5—10—20 petits parasites de ce type.

b) Un tout autre aspect du parasite ne représente, croyons-nous, qu'une modification, peut-être dégénérative, de la forme précédente.

Les individus les plus simples possèdent au centre un amas protoplasmique compact à corpuscules réfringents, puis une épaisse enveloppe transparente et périphériquement une membrane hyaline feuilletée FIG. 55. Souvent plusieurs amas protoplasmiques isolés sont groupés dans une même membrane hyaline feuilletée, FIG. 56; ces amas peuvent mesurer 150 µ et plus encore. Parfois il existe 2 5 20 masses protoplasmiques isolées; il semble qu'elles résultent de la fragmentation de la masse protoplasmique primitive. parfois les zones transparentes se sont fusionnées et contiennent de nombreux amas protoplasmiques, dont quelques-uns, moins bien limités, semblent se désagréger, FIG. 57. 58.

Cet aspect se rencontre isolé, ou bien dans les larves qui abritent également la forme précédente ou bien dans les nymphes. C'est la seule forme parasitaire que nous ayons rencontrée dans les nymphes. On trouve tantôt 40 à 50 individus de cette forme dans un même hôte, tantôt quelques individus seulement.

3. Infection mixte.

Quelques larves récoltées vers la mi-décembre étaient infectées en même temps par des parasites de la forme d'été et par des parasites du premier type de la forme d'hiver. Ces derniers sont petits, groupés à plusieurs et se reconnaissent aisément à leur opacité plus grande. De nombreux germes flagellés uninucléés existent dans ces larves.

B. Étude sur matériel fixé.

En règle générale, les centaines de parasites d'une même larve sont tous exactement au même stade; ils diffèrent entre eux par leurs dimensions, qui varient du simple au décuple, par le nombre des noyaux, qui varie proportionnellement, mais tous ces noyaux sont au même stade de leur évolution.

Exceptionnellement l'un ou l'autre parasite se trouve a un stade tout différent de ses centaines de voisins, et dans quelques rares larves la juxta position de stades différents permet de se rendre compte du passage de l'un à l'autre.

1. Stades d'ete.

a) Stades jeunes. Des larves récoltées au mois d'avril nous ont montré l'infection à son premier degré. L'anatomie de la larve est normale; de grandes quantités de tissu adipeux s'y rencontrent.

Les parasites par milliers sont subsphériques ou irréguliers, petits ou grands (3 à 30 μ), uninucléés ou multinucléés. FIG. 1. On les rencontre libres dans la cavité générale, et insinués dans tous les interstices cellulaires; ils attaquent surtout les cellules adipeuses proximales, FIG. 1, et distales (uriques), FIG. 2. Certains parasites sont partiellement enclavés dans la cellule graisseuse et partiellement libres, FIG. 1, ce qui conduit à attribuer à la plasmodie la faculté de se mouvoir, et de se nourrir successivement aux dépens de divers éléments de l'hôte.

Le protoplasme des parasites jeunes est finement granuleux et homogène, avec parfois quelques fins granules colorables; les noyaux, relativement grands, à membrane peu distincte, contiennent une grosse masse de réserve chromatique (caryosome?) et de fins filaments et granules beaucoup moins colorables, généralement ramassés en un petit amas informe. Le mécanisme des divisions nucléaires est difficile à analyser en détail; les divisions sont certainement du type bipolaire FIG. 1, 7. La fixation et la coloration de ces stades, comme de beaucoup d'autres, hélas!, sont rarement parfaites, et le plus souvent on n'observe dans le protoplasme que des grumeaux chromatiques informes, à peine entourés d'une aréole claire; cela nous explique l'opinion de STRICKLAND (13), qui croit à l'existence, pendant la plus grande partie de la vie du parasite, de « diffusly scattered chromatic masses ».

On trouve parfois des stades jeunes dans des larves toutes bourrées de parasites, arrivés au terme de leur évolution estivale. La FIG. 2 est empruntée à une larve remplie de parasites transformés déjà en germes uninucléés flagellés, FIG. 28; les parasites qui sont logés dans des cellules adipeuses distales sont caractérisés par leurs petits noyaux; ils présentent une ressemblance frappante avec les germes uninucléés eux-mêmes, et nous verrons plus loin qu'ils en proviennent probablement.

Les FIG. 5 et 6 sont intéressantes parce qu'elles montrent, d'une part, l'aspect de noyaux parasitaires imparfaitement fixés, et d'autre part, la grande ressemblance qui existe entre des parasites jeunes et des cellules de l'hôte (l'une d'elles, FIG. 5, est en mitose). La FIG. 4 représente probablement un tout jeune parasite intracellulaire.

b) Accroissement. Les parasites s'accroissent aux dépens des tissus de la larve; bientôt tout le tissu adipeux proximal disparait, le corps est littéralement bourré et gonflé par des plasmodies parasitaires; elles sont comprimées et moulées les unes sur les autres. Elles sont de dimensions

très variables (15 à 100 μ et plus); le protoplasme est de structure uniforme, sans enclaves; les noyaux, très nombreux, sont semblables aux noyaux des stades jeunes, mais la masse chromatique de réserve est généralement plus petite au repos, FIG. 11, 14, et irrégulièrement éparpillée dans les noyaux en division, FIG. 12, 13. Durant les divisions on n'observe d'autres détails qu'un étirement irrégulier du réseau nucléaire.

c) Segmentation des plasmodies. Les plasmodies se résolvent en une multitude d'individus uninucléés; mais avant que ce fait ne se produise, les noyaux se modifient. La réserve chromatique disparaît, les filaments nucléaires sont beaucoup plus nets, mieux individualisés et très chromatiques, FIG. 15, 16; sous cette forme les noyaux se divisent encore, ils s'allongent, les filaments constitutifs sont assez irrégulièrement disposés suivant le grand axe, et il semble qu'ils entourent en faisceau une travée axiale légèrement colorable unissant deux granules directeurs, FIG. 17; en coupe équatoriale on voit les éléments du noyau rayonnant autour de cet axe central. — Les aspects de noyaux sans masses chromatiques sont fréquents, mais ceux de noyaux volumineux avec filaments nucléaires très chromatiques et bien individualisés, FIG. 15—17, sont rares; nous avons cependant rencontré une larve où ils se trouvaient exclusivement et en très grand nombre.

Le protoplasme se segmente, et il se forme des individus à un seul gros noyau, FIG. 19; ce noyau se divise une dernière fois encore, FIG. 20, et chaque individu en donne deux autres à petit noyau, FIG. 20, 21. — Il semble que cette dernière transformation puisse offrir des variantes, que tantôt la segmentation du protoplasme soit progressive isolant des ilots plasmodiaux qui à leur tour se cloisonnent, que tantôt la segmentation n'ait lieu qu'après l'achèvement de la dernière division nucléaire.

d) Formation des zoospores. Les individus uninucléés mesurant 3 à 4 μ, possèdent un protoplasme homogène, pas de membrane distincte et un noyau bien colorable, sphérique, de 1 à 2 μ, FIG. 21.

Bientôt apparait dans le protoplasme un fin filament en rapport avec un petit granule chromatique juxta-nucléaire ou intranucléaire; c'est l'ébauche du flagellum, FIG. 22. Ensuite apparaissent des corpuscules chromatiques, assez irréguliers, souvent allongés, en nombre variable, FIG. 23; ils deviennent plus épais et se moulent souvent en demi-cercle à la périphérie du protoplasme, FIG. 24; tout en s'accroissant, ils se condensent en deux ou

trois masses volumineuses, FIG. 25, et enfin en une seule accolée au noyau, FIG. 26.

Le germe flagellé est alors complétement évolué; d'après ce que l'on peut contrôler sur le vivant, le flagellum est uni au noyau à sa base, il émerge du protoplasme et est enroulé autour de la zoospore en un tour de spire complet.

La signification du noyau accessoire accolé au noyau est énigmatique. Il est formé par la réunion des granules chromatiques mitochondriaux, FIG. 23, et étant donné qu'au cours du développement ceux-ci se disposent en cordons semi-circulaires périphériques, FIG. 24, il est permis de supposer qu'ils jouent un rôle dans l'édification du flagellum.

c) Zoospores. Généralement les germes flagellés sont libérés déjà à l'intérieur de la larve, et se répandent en quantité innombrable dans tous les interstices du corps. La larve éclate alors spontanément.

La zoospore mesure 6 à 8 μ, FIG. 28 (après fixation il y a condensation du protoplasme). Dans le protoplasme existe un noyau piriforme à sommet — disons antérieur — dirigé vers la périphérie; un noyau accessoire assez volumineux se trouve à la partie postérieure du noyau. Sur le vivant le noyau est clair, le noyau accessoire forme une masse un peu plus dense; après fixation au sublimé-alcool le noyau accessoire est beaucoup plus chromatophile (hématoxyline) que le noyau proprement dit; après coloration au GIEMSA il est bleu sombre, tandis que le noyau proprement dit est rouge franc. (Les FIG. 29—31, 33, 34, 39 reproduites d'après des préparations colorées au GIEMSA sont rendues en ton sur ton; en réalité les préparations montrent le noyau rouge et le noyau accessoire bleu.) A côté du noyau et du noyau accessoire existe un amas de quelques granules réfringents. Le flagellum est en rapport par sa base avec la partie antérieure du noyau; il possède un segment intra-protoplasmique et un long segment libre qui mesure une vingtaine de μ, FIG. 28—32. Le flagellum est d'abord enroulé autour du corps protoplasmique, il se libère ensuite.

Parmi les zoospores libérées nous avons parfois observé de petits individus uni- ou paucinucléés, FIG. 27. Ce sont évidemment des germes flagellés incomplétement évolués; ils rappellent étrangement et ont semble-t-il, la même valeur que les parasites jeunes, FIG. 2, dont nous avons parlé plus haut. Nous croyons que la propagation de l'infection dans l'hôte lui-même peut se faire par eux.

f) Évolution des zoospores. Les zoospores examinées sous couvre-objet s'altèrent après un quart d'heure; conservées dans l'eau pure elles dégénèrent après deux ou trois heures, et des essais de conservation dans de l'eau continuellement agitée et aérée n'ont pas donné de meilleurs résultats.

Les zoospores se transforment en germes amiboïdes, et ce processus paraît être un phénomène normal. Parmi les zoospores examinées dans l'eau, on observe constamment des individus amiboïdes; on les observe déjà dès la libération des zoospores, on les observe plus fréquemment quelques minutes après la mise en liberté, on les retrouve après deux et trois heures. Parmi ces germes amiboïdes les uns possèdent un flagellum réduit, le corps proprement dit contient le noyau, le noyau accessoire et quelques granules réfringents, une portion du protoplasme est plus claire avec quelques vacuoles, FIG. 33—35; cette portion protoplasmique est mue de mouvements rapides et saccadés ne rappelant que de loin des mouvements amiboïdes. La FIG. 35 reproduit quatre formes successives prises par un même individu en un espace de temps d'environ 5 secondes. D'autres germes amiboïdes, à corps mobile, sont terminés antérieurement par un prolongement court plus épais qu'un flagellum, battant rapidement, une ou deux fois par seconde, FIG. 36, 37. D'autres enfin sont dépourvus de tout flagellum, FIG. 39, 38; cette dernière figure représente quatre aspects successifs observés en 10 secondes sur un même individu.

Comme nous l'avons dit, nous n'avons pu maintenir les zoospores en vie que pendant quelques heures; nous n'avons pendant ce temps observé aucun aspect qui permette de supposer qu'il y a copulation entre deux individus.

2. Stades d'hiver.

a) Première forme. Plusieurs larves récoltées vers la mi-décembre montrent une forme d'infection intéressante. Les cavités du corps contiennent par endroit des quantités de parasites d'été au stade de la segmentation plasmodiale; ailleurs, également localisés par place, existent des stades d'hiver aux premières étapes de leur formation, FIG. 40—42, 44, 45. Parmi ceux-ci on observe des parasites de 8 à 15 μ de diamètre, ils possèdent un volumineux noyau de 4 μ, qui contient un gros caryosome très chromatophile et quelques filaments chromatiques dans le cytoplasme clair. Le protoplasme est tantôt clair et homogène, FIG. 40, 41, tantôt chargé de petites enclaves irrégulières colorables, FIG. 41—44, tantôt bourré de grosses en-

claves intensément colorables, FIG. 44. A côté des parasites uninucléés il en existe à 2, 3, 5 noyaux, FIG. 44, 45. Tous ces parasites sont entourés d'une enveloppe hyaline assez épaisse; ils sont généralement réunis en petits amas accolés par l'enveloppe hyaline. (Sur coupes ils n'apparaissent pas accolés, parce que la membrane d'enveloppe est presque toujours devenue invisible dans les milieux éclaircissants, FIG. 44.) Dans un même amas on trouve des individus uni- ou paucinucléés, et des parasites à protoplasme chargé de grosses enclaves, de petites enclaves ou sans enclaves, FIG. 44. Dans ces mêmes larves on trouve des parasites volumineux, mesurant une trentaine de μ, et semblables à ceux que nous allons décrire.

Des centaines de larves infectées récoltées pendant l'hiver contiennent, soit rares soit en grand nombre, des parasites de grande taille (60 μ en moyenne) à nombreux gros noyaux, à protoplasme riche en enclaves. Le corps protoplasmique est protégé par une enveloppe d'épaisseur variable mesurant souvent le tiers du diamètre total, FIG. 47; sur le vivant elle est parfaitement transparente, sur les coupes elle est généralement déchirée ou arrachée, peu colorable FIG. 48; bien apparente avant éclaircissement des préparations, elle est généralement invisible après, FIG. 49–51.

Le protoplasme est bourré de grosses enclaves qui, après la fixation au BOUIN, ZENKER BENDA, sont intensément colorables par la plupart des colorants nucléaires (hématoxyline, safranine, violet de gentiane, carmin, rouge magenta, etc.), FIG. 44, 49, 51, 53. Leur coloration résiste énergiquement à la différentiation prolongée, elles sont si nombreuses qu'elles masquent le plus souvent les noyaux du parasite. Après fixation au sublimé-alcool, ces enclaves sont moins colorables et sont parfois invisibles, FIG. 50, 52; on découvre par contre des granules chromatophiles formant une assise continue près de la membrane, FIG. 50.

L'épreuve à l'acide osmique donne au parasite entier une teinte brune assez foncée; mais en écrasant le parasite, on voit que les enclaves ne sont pas spécialement colorées et qu'elles sont de teinte jaune.

Les noyaux sont semblables à ceux décrits dans les stades d'hiver jeunes; ils se divisent par bipartition, le caryosome étant conservé et fonctionnant comme nucléo-centrosome, FIG. 51. Il est probable que les divisions sont synchrones dans un même parasite, mais qu'elles se succèdent très lentement; cette lenteur est un rapport avec la physiologie de la forme d'hiver qui paraît être une forme latente à fonctions végétatives très ralenties. Nous avons examiné nombre de milliers de parasites d'hiver sur des

séries de coupes provenant de plus de cent larves infectées récoltées à des époques différentes; nous n'avons découvert qu'un seul cas certain de division nucléaire, FIG. 51. La FIG. 52 représente un aspect nucléaire parfois observé sur des préparations fixées au sublimé-alcool (déplorable fixateur nucléaire, hélas!); peut-être représente-t-elle une prophase et fait-elle soupçonner qu'il y a division intranucléaire avec tassement des éléments chromatiques à côté du caryosome.

On rencontre parfois dans des larves à infection d'hiver caractérisée, des parasites uni- ou paucinucléés groupés dans une enveloppe commune. Ils proviennent probablement de la fragmentation de gros parasites en individus plus simples, FIG. 54.

b) Seconde forme. Nous avons dit en parlant de l'aspect des parasites vivants que certains sont polykystiques, FIG. 56 - 61. Sur préparation fixée ces parasites présentent un protoplasme clair et des noyaux volumineux analogues aux noyaux de la forme d'hiver, FIG. 57 61; parfois les noyaux présentent anormalement deux caryosomes, FIG. 60. Ces individus sont petits, paucinucléés et tassés à plusieurs dans une capsule commune; ils paraissent provenir, par morcellement, d'un individu plus volumineux et être entourés d'une capsule de tissu réactionnel sécrété par les cellules hôtes.

C. L'Amœbidium des larves de Simulium.

Cette espèce, que nous croyons être celle décrite par CHATTON et ROUBAUD (09), fut assez fréquemment observée dans le rectum des larves que nous avons étudiées. Le parasite est de forme nématoïde très grêle et peut atteindre plusieurs centaines de microns en longueur. Le corps plasmodial est revêtu d'une membrane résistante qui, à la partie antérieure, sert à la fixation du parasite, FIG. 62, 63. Le protoplasme est complétement homogène; sur les préparations fixées on voit, sauf chez les individus très grêles, une grande cavité centrale qui se prolonge sur toute la longueur du parasite; parfois le parasite est localement dilaté et possède une large cavité centrale. Les noyaux sont très nombreux et disposés irrégulièrement dans le protoplasme, ils sont volumineux à très gros caryosome chromatique, FIG. 64, et ressemblent étonnamment aux noyaux des stades d'hiver de *Cœlomycidium*, FIG. 45. Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer des divisions nucléaires ni aucun stade d'évolution.

II. INTERPRÉTATION ET DISCUSSION

Malgré de patientes recherches, la connaissance que nous avons du cycle évolutif du *Cœlomycidium* est encore incomplète.

1° *L'Évolution des stades d'été*, FIG. 1—39, aboutit à la production de germes flagellés que l'on peut appeler zoospores, en comprenant ce terme dans le sens large qu'admet MINCHIN (12). Les noyaux se multiplient par bipartition; des cinèses (probablement deux), de type particulier, dépourvues de caryosome, précèdent immédiatement l'individualisation des zoospores; celles-ci, d'abord flagellées, deviennent ensuite amiboïdes et perdent le flagellum; aucun phénomène de conjugaison ne peut être observé entre elles; des zoospores incomplètement différentiées peuvent, semble-t-il, propager l'infection dans le même hôte, FIG. 27, 2.

Les zoospores sont évidemment à rapprocher de celles que l'on rencontre chez les mycétozoaires, les phytomyxidées et les chytridinées. Le fait que leur formation est précédée de cinèses de type spécial, dans lesquelles le caryosome a disparu, fut observé dans ces divers groupes (MAIRE et TISON, 09, et 11; WINGE, 13; BAILLY, 12, etc.). Ce rapprochement conduit à considérer que les zoospores sont vraisemblablement en rapport avec des phénomènes de fécondation.

Les mycétozoaires ont des zoospores que KRÆNZLIN (07), JAHN (08) et d'autres considèrent comme le résultat d'une fécondation suivie de deux cinèses de maturation; plus tard JAHN (11) les considère comme des gamètes formés après deux cinèses de maturation et destinés à se fusionner; la seconde façon de voir s'appuie sur des arguments solides et sera sans doute confirmée dans la suite. La reproduction sexuée des phytomyxidées est encore inconnue. Chez les chytridinées on connaît la reproduction sexuée de quelques espèces seulement (LŒWENTHAL, 05, BARRETT, 12, KUSANO, 12, WAGER, 13, etc.). Dans tous ces cas les zoospores peuvent se reproduire directement et asexuellement, ou bien sexuellement après copulation; la reproduction asexuée se fait généralement par sporanges peu protégés, tandis que la reproduction sexuée se fait par des zygotes, puis des sporanges à membrane épaisse (sporanges durables); les modalités de la copulation sont très variables : un seul cas retiendra notre attention, c'est celui de l'*Olpidium viciæ* (KUSANO, 12). Les zoospores possèdent un long flagellum; 1° elles servent de point de départ à la reproduction agame. Elles devien-

nent amiboïdes, perdent leur flagellum, pénètrent dans une cellule-hôte et s'y accroissent. Les noyaux se multiplient par des divisions qui « ressemble amitosis »; lors des dernières divisions « the nucleolus disappears... mitotic division is quite certain »; le zoosporange reproduit des zoospores; 2° elles servent de point de départ à la reproduction sexuée. Deux zoospores se fusionnent; après accroissement de la capsule et épuration nucléaire, les deux noyaux se fusionnent; le zygote est formé. L'accroissement continue, le noyau se multiplie par mitoses, les noyaux sont beaucoup plus volumineux et plus chromatiques que dans le zoosporange agame; le cytoplasme est compact et contient « larger and smaller globules like oil drops », une épaisse membrane le protège; l'aboutissant probable de la reproduction sexuée parait être des zoospores. Les dessins donnés par KUSANO, plus encore que la description, suggèrent un rapprochement étroit entre l'*Olpidium viciæ* et le *Cœlomycidium simulii*.

Nous nous bornons à signaler ce rapprochement; l'exemple de l'*Olpidium viciæ* comble dans notre esprit les lacunes qui existent dans nos observations. Nos observations nous conduisent à croire que les zoospores propagent l'infection dans l'hôte primitif, mais malgré des recherches et des essais répétés nous n'avons pas observé leur copulation, ni dans l'hôte, ni en dehors de lui. Il nous est donc impossible d'établir avec précision la signification complète des zoospores de *Cœlomycidium*.

2° *Les formes d'hiver*, FIG. 40–61.

a) Elles appartiennent à la même espèce que les formes d'été. En effet, pendant tout l'été on ne rencontre qu'une forme, et pendant tout l'hiver on ne rencontre que l'autre; aux saisons de transition certaines larves renferment les deux formes et l'examen sur le vivant montre avec évidence leur parenté. Que l'on n'objecte pas la grande difference entre forme d'hiver et forme d'été; nous venons de signaler une différence aussi marquée chez l'*Olpidium viciæ*, nous la rencontrerons plus loin encore chez le *Polycarium*. Enfin rappelons simplement que les formes d'été dégénérant au contact de l'eau, produisent une enveloppe hyaline.

b) L'origine des formes d'hiver n'a pu être observée; elles proviennent très probablement du développement des zoospores.

c) Quant à la destinée des formes d'hiver, la seule chose que nous sachions, c'est qu'elles peuvent se fragmenter en individus plus simples, FIG. 54, et probablement produire de la sorte et sur place de nouveaux stades d'hiver uninucléés; ce processus parait être exceptionnel.

Les aspects décrits plus haut comme second type des formes d'hiver appartiennent probablement à des parasites dégénérés sous l'influence réactionnelle des tissus-hôtes. Ce qui confirme cette façon de voir, c'est que ces aspects furent trouvés en petit nombre, et à l'exclusion de tous autres, dans les nymphes. STRICKLAND (13) considère que les larves infectées ne subissent jamais la nymphose, parce que les histoblastes des larves infectées sont arrêtés dans leur développement, et que par conséquent il n'y a pas de nymphes infectées. En fait les nymphes sont infectées, mais elles le sont par des parasites peu nombreux, et partant peu nocifs, arrêtés dans leur évolution et même dégénérés par la réaction des tissus-hôtes.

Nous n'avons observé aucun stade qui indique une transformation des stades d'hiver en stades d'été, ou qui établisse une transition entre eux. Il nous paraît dès lors peu probable que les premiers se transforment sur place ; il est plus probable qu'au printemps les stades d'hiver évoluent librement dans l'eau.

3° *Les stades d'Amœbidium* rencontrés dans l'intestin des larves de *Simulium* font peut-être partie du cycle d'évolution du *Cœlomycidium*. Cette hypothèse, qui ne repose sur aucune observation directe et qui paraît même un peu extraordinaire, est fondée sur les quelques remarques suivantes :

a) Une espèce d'*Amœbidium* se rencontre sur les larves de *Simulium*, d'autres se rencontrent sur les phyllopodes ou dans leur intestin (CHATTON, 06, *a* et *b*, RAABE, 12). L'*Amœbidium moniezi* (LABBÉ, 99) se rencontre également sur un copépode.

Dans les larves de *Simulium* on rencontre le *Cœlomycidium*, dans les phyllopodes on rencontre les *Polycarium branchipodianum* et *læve* qui ont une parenté étroite avec le *Cœlomycidium*, et on y rencontre également le *Cœlosporidium chydericola* qui appartient vraisemblablement à la même famille que les espèces précédentes.

b) Il existe une ressemblance frappante de taille et de structure entre les noyaux d'hiver du *Cœlomycidium* et les noyaux de l'*Amœbidium* du *Simulium*, FIG. 53, 64.

c) On ne connait de l'*Amœbidium* qu'un cycle probablement incomplet (CHATTON, 06, *a* et *b*). L'*Amœbidium parasiticum*, le seul qui soit plus ou moins bien connu, forme des kystes à membrane épaisse, dans lesquels s'accumulent, comme chez *Polycaryum*, *Cœlosporidium* et *Blastulidium*, des réserves décrites comme graisseuses.

d) Perez (03, 05) décrit succinctement le *Blastulidium pædophtorum*, parasite des œufs pondus et des tout jeunes embryons de *Daphnia obtusa;* Chatton (08) y décrit des zoospores qui se libèrent en sortant par un prolongement en goulot de la membrane parasitaire. Les recherches de Chatton font nettement apparaitre la parenté qui rattache le *Blastulidium* au *Cœlomycidium* et également aux Chytridinées. Or, une forme externe enkystée, qui appartient probablement au même parasite, présente des relations de parenté frappantes avec les kystes d'*Amœbidium.* Chatton conclut en disant : « par leur habitat, leur mode de fixation et leur structure intime, ces parasites énigmatiques présentent avec les *Amœbidium* d'indéniables ressemblances ».

e) Mesnil et Marchoux (97), dans la description qu'ils donnent de *Cœlosporidium chydericola*, disent avoir trouvé sur le même hôte « des ectoparasites évoluant tout à fait comme les *Amœbidium.* Il est impossible de dire si cet ectoparasite constitue un cycle particulier de développement de *Cœlosporidium;* mais ce que l'on peut affirmer, c'est qu'il en est très voisin ».

f) Alexeieff (14), en étudiant l'*Ichthyosporidium gasterophilum*, qui est certainement apparenté au *Cœlomycidium*, écrit : « à ce stade, on ne peut manquer d'être frappé de la ressemblance que présente cette formation régulièrement sphérique avec les kystes d'*Amœbidium parasiticum* ».

Si l'identité entre le *Cœlomycidium* et l'*Amœbidium* se confirme dans l'avenir, la signification des stades d'hiver du premier deviendrait plus claire; le parasite aurait un cycle endogène (formes d'été) et un cycle exogène *(Amœbidium* évoluant comme l'a décrit Chatton, 06 *a* et *b).* Les formes d'hiver seraient les homologues des formes exogènes, mais représenteraient un cycle d'hibernation évoluant lentement à l'intérieur du corps et à l'abri des conditions extérieures défavorables.

III. SYSTÉMATIQUE.

Le *Cœlomycidium* fut découvert et succinctement décrit par Strickland (13), qui nous dit : « I sent prepared specimens of the parasites to Professor Calkins, who very kindly replied that they probably belonged to the order gregarinida. I have not, however, sufficient stages to be certain of this, but if this be the case, there are one or two characters which are

not quite in accordance with those usually connected with gregarinida ». STRICKLAND a raison de réserver son jugement; il est inutile d'insister sur l'impossibilité de ce rapprochement.

Nous allons passer en revue quelques espèces qui paraissent appartenir à la même famille que le *Cœlomycidium*; nous verrons ensuite quelle est cette famille et quelles sont ses affinités.

a) Espèces voisines.

STEMPELL (03) est parvenu à écrire trois études sur le genre *Polycarium* et à ne donner que des descriptions d'aspects assez incohérents. En glanant dans son texte et surtout en comparant ses dessins, nous arrivons à la conviction que *Polycarium* et *Cœlomycidium* sont deux genres à affinités étroites. Il existe deux espèces : le *Polycarium branchipodianum*, parasite de *Branchipus grubei*, caractérisé par des formes discoïdes, à capsule portant des striations sur la tranche; le *Polycarium læve*, parasite de *Daphnia longispina*, qui possède des formes lenticulaires. Ce dernier montre des stades à épaisse membrane hyaline lamellaire à protoplasme chargé de « graisse », qui disparait par la fixation à l'alcool, qui est colorable en « brun et même en noir » par l'acide osmique, qui est très colorable et difficilement différentiable par l'hématoxyline, et des formes à protoplasme plus clair à membrane mince; chaque hôte n'héberge généralement qu'un stade bien déterminé du parasite. Les formes à membrane mince donnent des « spores » uninucléées arrondies à une extrémité, très aiguës à l'autre, et « probablement très mobiles sur le vivant »; d'après la description et les dessins nous sommes persuadé que ces « spores » sont des germes flagellés. Les individus enkystés « pourraient être des formes d'hiver, les individus sporulants des formes d'été ».

STEMPELL (03) et CAULLERY et MESNIL (05) rapprochent avec raison les *Polycarium* de *Cœlosporidium chydericola*, MESNIL et MARCHOUX (97). Cette espèce possède des formes enkystées en boudins de 60 à 100 μ, à membrane épaisse, à gouttelettes graisseuses, à noyaux vacuolaires avec nucléole chromatique; et des formes probablement propagatives à membrane mince et sans réserves graisseuses.

Le parasite décrit par PEREZ (03, 05) sous le nom de *Blastulidium pædophtorum* fut rangé déjà par CAULLERY et MESNIL à côté de *Cœlosporidium* et de *Polycaryum*. CHATTON (08) y a découvert des zoospores, et la description qu'il donne de cette espèce établit sa parenté avec *Cœlomycidium*.

CAULLERY et MESNIL (05) groupent les espèces précédentes pour en former la famille des *Cœlosporidiidæ*, et croient pouvoir en rapprocher toute une série de parasites qu'ils réunissent sous la dénomination générique de *Serumsporidium* PFR. Ces parasites sont trop peu connus pour qu'il soit opportun d'en discuter les affinités. Les *Bertramia* sont dans le même cas. Leurs aspects plasmodiaux, leurs spores nues ont conduit CAULLERY et MESNIL (05) à supposer une parenté avec les *Cœlosporidiidæ*. Cette opinion parait confirmée par l'examen superficiel de *Bertramia asperospora* FRITSCH, que nous avons trouvé dans des *Brachionus pala* EHRBG. (forme *amphiceros)*, récoltés dans les étangs de *Tervueren*. Les hôtes hébergeaient en même temps deux formes, les unes boudinées à nombreuses spores rappelant les formes d'été de *Cœlomycidium*, les autres sphériques à enveloppe hyaline à granules réfringents, rappelant les formes d'hiver de cette espèce. Le matériel récolté ne se prêta pas à une étude cytologique. Cependant les conclusions des études de KONSULOFF (12, 14) sur le *Bertramia* rendent impossible le rapprochement entre ce genre et d'autres genres connus ; mais les détails que décrit cet auteur sont si particuliers qu'ils demandent confirmation avant d'être admis. BERTRAM (92), quoique n'ayant pas découvert de zoospores chez les *Bertramia*, a songé à les rapprocher des Chytridinées. Le *Bertramia bufonis* KING (07) nous paraît être mal dénommé; l'aspect des spores rappelle d'une façon frappante l'aspect des spores de microsporidies (DEBAISIEUX, 15, 16). Il est vrai que l'auteur n'a pas observé de filaments spiralés, mais le fait n'a rien d'étonnant, étant donné qu'il n'a eu à sa disposition que du matériel fixé et représenté seulement par un seul objet.

CHATTON et BRODSKY, 09 (voyez également PÉNARD, 13), décrivent un *Sphærita* de l'*Amœba limax*, qui par ses stades plasmodiaux, par ses stades moruliformes et par ses zoospores, a une grande ressemblance et une parenté évidente avec *Cœlomycidium*. Ce parasite doit être rangé avec les *Sphærita* de DANGEARD (86, 95), parmi les Chytridinées olpidiacées.

Les recherches de DE BEAUCHAMPS (14) sur l'évolution et les affinités de *Dermocystidium* doivent nous arrêter un instant. Les parasites qu'il étudie sont groupés en tumeurs à membrane nette dans la peau des tritons. Ils se multiplient d'abord par bipartitions, puis par divisions nucléaires répétées ils donnent des plasmodies à membrane distincte. Dans les plasmodies, des germes uninucléés s'individualisent, et libérés dans l'eau ils se présentent sous forme de zoospores de 2,5 μ à flagellum très long. L'auteur croit avec raison avoir affaire « à peu près sûrement à une Chytridinée ». Il

identifie ce parasite avec le *Dermocystidium* de Perez (13), Leger (14) et Dunkerley (14); « il semble tout à fait invraisemblable qu'il s'agisse d'un parasite différent. Il semble plausible que le parasite puisse, suivant les circonstances, évoluer de deux façons : en éléments de propagation constitués par les zoospores nageant dans l'eau, qui transmettraient l'infection d'un animal à un autre, sans doute directement par voie cutanée; en éléments de résistance, constitués par des cellules à inclusions, qui seraient éliminés en masse et resteraient inactifs dans le milieu jusqu'au jour où ils germeraient d'une façon inconnue ». *Si la légitimité de cette identification se vérifie*, la conclusion est logique et il existerait une parenté certaine entre *Dermocystidium* et *Cœlomycidium*.

Les recherches de Leger et Duboscq (09) sur le *Chytridiopsis* n'autorisent pas le rapprochement entre cette espèce et le *Cœlomycidium*; par contre celles de Trégouboff (13) sur *Chytridoïdes* conduisent cet auteur à conclure — un peu prématurément nous semble-t-il — que les particularités de cette espèce « la rapprochent encore plus des Chytridinées, et par là même justifient la situation des *Chytridiopsides* au voisinage de ce groupe. »

La description par Alexeieff (14) d'*Ichthyosporidium gasterophilum*, quoique très incomplète et entachée d'hypothèses, fait cependant ressortir de nombreuses caractéristiques qui rattachent cette espèce au *Cœlomycidium*.

b) *La famille et les affinités.*

D'après tout ce que nous venons de voir, les affinités naturelles de *Cœlomycidium* et des espèces voisines les rattachent évidemment aux Chytridinées.

Caullery et Mesnil (05) ont établi la famille des *Cœlosporidiidæ* (Haplosporidies, Sporozoaires) pour abriter les *Cœlosporidium*, *Polycaryum* et *Blastulidium*. Elle devrait comprendre également le *Cœlomycidium*, mais certains caractères de ce dernier genre doivent en ce cas se réfléchir sur les genres voisins. Le principal de ces caractères est l'existence de zoospores. Nous avons vu que Chatton (08) les a observées chez *Blastulidium* et que nous croyons à leur existence chez *Polycaryum*.

Nous ne croyons pas que l'introduction de ce caractère essentiel exige un changement de nom pour la famille; cela ne ferait que compliquer les recherches à venir; mais elle entraine une interprétation nouvelle des affinités de la famille.

Caullery et Mesnil (05, p. 135) disent à propos de *Bertramia* : « l'existence d'un stade flagellé n'impliquerait pas qu'il faille séparer cette espèce des sporozoaires. » Ils ont en partie raison, puisque nous ne savons pas quelles sont les affinités des sporozoaires, si tant est que ce groupement ait quelque cohésion ; mais nous dirions volontiers : l'existence de zoospores dans la famille des *Cœlosporidiidæ* n'implique pas nécessairement qu'il faille les séparer des néosporidies ; elle se rattache peut-être aux plus primitives, précèdent les *Haplosporidiidæ* ; mais elle implique nécessairement un rapprochement avec les Chytridinées.

Cette conclusion est en harmonie avec ce que Pavillard (10) écrit à propos des *Amœbidium*. Même sans connaître la possibilité d'un cycle endogène, il écrit : « on ne peut guère les rapprocher que des Chytridinées, qui offrent également, nous l'avons vu, d'incontestables affinités avec les sporozoaires. »

c) Le genre et l'espèce.

Le genre le plus voisin du parasite que nous venons de décrire est le *Polycarium*. Il est caractérisé par la capsule discoïde et sculptée, ou bien lenticulaire, de ses formes enkystées, et nous possédons d'ailleurs trop peu de détails sur l'évolution des *Polycaryum* pour oser ranger sous la même dénomination le parasite du *Simulium*.

Il est donc nécessaire de forger pour ce parasite une dénomination générique et spécifique nouvelle, et nous proposons de l'appeler *Cœlomycidium simulii*.

Si un jour l'identité entre *Cœlomycidium* et *Amœbidium* est confirmée, la priorité reviendrait évidemment à ce dernier nom, mais il ne semble pas qu'il soit utilisable, car il se confirmerait alors aussi que l'*Amœbidium*, représente le cycle exogène de parasites dont les cycles endogènes diffèrent au point qu'il est impossible de grouper les différentes espèce sous une même dénomination générique ; il faudrait distinguer différents genres ayant tous un stade *Amœbidium*.

RÉSUMÉ.

1. Le *Cœlomycidium simulii*, parasite de la cavité générale des larves de *Simulium*, se présente sous deux formes principales correspondant à deux périodes du cycle.

2. Les formes d'été mesurent de quelques μ à 100 μ. Le protoplasme est clair, il n'y a pas de membrane enkystante. Les noyaux se divisent par bipartitions; ils possèdent un gros granule chromatique qui se morcelle et persiste pendant les divisions. Les divisions qui précèdent immédiatement la sporulation (probablement les deux dernières) diffèrent des autres par le fait que la réserve chromatique disparue, n'y participe pas.

3. Les formes d'été se résolvent en zoospores qui possèdent un long flagellum en rapport avec le noyau et un noyau accessoire. Après quelque temps de vie libre, les zoospores deviennent amiboïdes et perdent leur flagellum.

4. Les formes d'hiver mesurent 18 à 180 μ. Le protoplasme est bourré d'enclaves, parmi lesquelles des gouttelettes d'aspect huileux. Elles sont protégées par une très épaisse membrane hyaline enkystante. Les noyaux sont volumineux à gros caryosome sphérique; ils se divisent par bipartitions. L'évolution de la forme d'hiver ne put être observée.

5. Le cycle d'évolution n'a pu être précisé; la plupart des stades présentent de grandes ressemblances avec ceux de l'*Olpidium viciæ* Kusano (12); il semble que le cycle se rapproche de celui de cette espèce.

6. Il y a de bonnes raisons de croire que les formes *Amœbidium* qui vivent dans le rectum des larves de *Simulium* appartiennent au cycle d'évolution du *Cœlomycidium*.

7. Le *Cœlomycidium* appartient à la famille des *Cœlosporidiidæ*, Caullery et Mesnil (05); il s'y trouve rangé à côté du *Cœlosporidium*, *Polycaryum* et *Blastulidium*. Plusieurs autres espèces doivent être provisoirement annexées à cette famille.

8. La famille des *Cœlosporidiidæ* doit être rattachée aux Chytridinées.

BIBLIOGRAPHIE.

1914 *Alexeieff* : Sur le cycle évolutif d'une Haplosporidie; Arch. Zool. exp. et g. (N. et R.), t. 54.

1912 *Bally* : Cytologische Studien an Chytridineen; Jahr. wiss. Botanik, t. 50.

1912 *Barrett* : Development and sexuality of some species of Olpidiopsis; Ann. of Bot., t. 26.

1892 *Bertram* : Zur Kenntnis der Sarcosporidien und über parasitische Schläuche aus der Leibeshöhle der Rotatorien; Zool. Jahr. (Anat.), t. 5.

1905 *Caullery* et *Mesnil* : Recherches sur les Haplosporidies; Arch. zool. exp. et g., 4e série, t. 4.

1906 *a* *Chatton* : La biologie, la spécification et la position systématique des *Amœbidium*; Arch. zool. exp. et g. (N. et R.), 4e série, t. 4.

1906 *b* » La morphologie et l'évolution de l'*Amœbidium reticola*; Ibid., 4e série, t. 4.

1908 » Sur la reproduction et les affinités de *Blastulidium pœdophtorum*; C. R. Soc. Biol., t. 64.

1909 *Chatton* et *Brodsky* : Le parasitisme d'une Chytridinée du genre *Sphærita* chez *Amœba limax*; Arch. f. Prot., t. 17.

1909 *Chatton* et *Roubaud* : Sur un *Amœbidium* du rectum des larves de *Simulium*; C. R. Soc. Biol., t. 64.

1886 *Dangeard* : Sur un nouveau genre de Chytridiacées parasite des Rhizopodes et des Flagellates; Bull. Soc. Bot France, t. 33.

1895 » Mémoire sur les parasites du noyau et du protoplasme; Le Botaniste, t. 4.

1915 *Debaisieux* : Études sur les microsporidies, II. *Glugea danilewskyi*, III. *G. mülleri*; La Cellule, t. 30.

1916 » Études sur les microsporidies, IV. *Glugea anomala*; La Cellule, t. 30.

1915 *Debaisieux* et *Gastaldi* : Les Microsporidies parasites des larves de *Simulium*, II. La Cellule, t. 30.

1914 *de Beauchamps* : Évolution et affinités des *Dermocystidium*; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 158.

1907 *a* *Doflein* : Fortpflanzungserscheinungen bei Amöben und verwandte Organismen; Sitz. Ber. Ges. f. Morph. u. Physiol.

1907 *b* *Doflein* : Amöbenstudien; Arch. f. Protist., t. 10.

1914 *Dunkerley* : *Dermocystidium pusula* parasite de *Trutta fario*; Zool. Anz., t. 44.

1908 *Jahn* : Myxomyceten Studien. 7. *Ceratomyxa*; Ber. d. d. Bot. Gesel., t. 25.

1911 *Jahn* : Myxomyceten Studien, 8. Der Sexualakt; Ibid., t. 29.

1907 *King* : *Bertramia bufonis*; Proc. Acad. Nat. Sc Philadelphia.

1912 *Konsuloff* : Ueber die Rotatorparasiten, *Bertramia asperospora*; Arch. f. Prot., t. 27.

1914 » Ueber den Rotatorparasit, *Bertramia euchlanis* n. sp.; Arch. f. Prot., t. 33.

1907 *Kränzlin* : Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien bei den Trichien und Arcyrien; Arch. f. Prot., t. 9.

1912 *Kusano* : On the life-history and cytology of a new Olpidium, with special reference to the copulation of motile isogametes; Journ. Coll. agricul. Imper. Univ. Tokyo, t. 4.

1899 *Labbé* : Sporozoa (Das Tierreich). Berlin, Friedländer.

1914 *Léger* : Sur un nouveau protiste du genre *Dermocystidium* parasite de la Truite; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 158.

1909 *Léger* et *Duboscq* : Sur les Chytridiopsis et leur évolution; Arch. zool. exp. et g., Série 5, t. 1.

1905 *Löwenthal* : Weitere Untersuchungen an Chytridiaceen; Arch. f. Prot., t. 5.

1909 *Maire* et *Tison* : La Cytologie des Plasmodiophoracées et la classe des *Phytomyxinæ*; Ann. de Mycologie, t. 7.

1911 » Nouvelles recherches sur les Plasmodiophoracées; Ibid., t. 9.

1897 *Mesnil* et *Marchoux* : Sur un Sporozoaire nouveau *(Celosporidium chydericola)* intermédiaire entre les Sarcosporidies et les *Amœbidium*; C. R. Ac. Sc. Paris, t. 125.

1912 *Minchin* : Introduction to the study of the Protozoa; London, Arnold.

1910 *Pavillard* : État actuel de la Protistologie végétale; Progressus Rei Botanicæ, t. 3.

1913 *Pénard* : Nouvelles recherches sur les Amibes du groupe *Terricola*; Arch. f. Prot., t. 28.

1903 *Perez* : Sur un organisme nouveau parasite des embryons de Daphnies; C. R. Soc. Biol., t. 55.

1905 *Perez* : Nouvelles observations sur le *Blastulidium pædophtorum*; C. R. Soc. Biol., t. 58.

1913 » *Dermocystidium pusula*; Arch. zool. exp. et g., t. 52.

1912 *Raabe* : Les divisions du noyau chez *Amœbidium parasiticum*; Ibid., 5e série, t. 10.

1903 *Stempell* : Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Polycaryum*; Arch. f. Prot., t. 2.

1913 *Strickland* : Further observations on the parasites of *Simulium* larvæ; Journ. of Morph., t. 24.

1913 *Tregouboff* : *Chytridiopsides schizophylli* n. g., n. sp.; Arch. zool. exp. et g., Notes et Revues, t. 52.

1913 *Wager* : The life-history and cytology of *Polyphagus euglenæ*; Ann. of Bot., t. 27.

1913 *Winge* : Cytological studies in the *Plasmodiophoracea*; Ark. för Botanik, t. 12.

—

EXPLICATION DES PLANCHES.

La combinaison optique (Zeiss) *employée pour les dessins fut formée de l'objectif imm.* 1.5 *m.m. et de l'oculaire* 18 (*gross. lin.* 3000).

Quelques dessins marqués sur les planches de l'indication « 1 3 » *sont exécutés à l'aide de l'oculaire* 6 (*gross. lin.* 1000). *La projection fut faite au niveau de la platine du microscope par le prisme* Nachet.

L'échelle de grossissement en tête de la planche I rend compte de la dimension reelle des dessins exécutés avec l'oculaire 18.

Abréviations : *B. Liqueur fixatrice de* Bouin.
Z. » » Zenker.
S. Sublimé alcool.
H. Colorant hématoxyline de Heidenhain.
D. » » Delafield.

PLANCHE I.

Formes d'été.

FIG. **1.** Cellule graisseuse proximale attaquée par plusieurs parasites jeunes uninucléés ou plasmodiaux. L'une des plasmodies (à gauche, en haut) est partiellement libre, partiellement entrée dans la cellule graisseuse; une autre (à gauche, en bas) est complétement libre et possède des noyaux en division. Ce même hôte contient uniquement, mais en nombre énorme, des parasites au même stade. B. H.

FIG. **2.** Cuticule chitineuse et cellules graisseuses distales (uriques) contenant des parasites jeunes uninucléés ou plasmodiaux. Ce même hôte héberge surtout des parasites beaucoup plus évolués, se résolvant en zoospores. Z. H.

FIG. **3.** Jeune parasite uninucléé en division nucléaire. B. H.

FIG. **4.** Probablement un jeune parasite intracellulaire. B. H.

FIG. **5.** Cellules de l'hôte, l'une d'elles en cinèse, et parasite. B H.

FIG. **6**. Idem. Les plasmodies parasitaires semblent à première vue avoir la chromatine disposée en appareil chromidial. Cet aspect, dû à une conservation imparfaite, représente en réalité des noyaux individualisés, dont plusieurs même sont en division. B. H.

FIG. **7**. Parasites jeunes, avec noyaux en division. B. H.

FIG. **8**. Parasite jeune, avec noyaux au repos. B. H.

FIG. **9**. Aspect sur le vivant d'un parasite plasmodial, à comparer avec les aspects fixés des FIG. **13** à **18**. Dimensions réduites au 1/3.

FIG. **10**. Aspect sur le vivant d'un parasite se transformant en zoospores, à comparer avec les aspects fixés des FIG. **19** à **26**. Portion du parasite sphérique réduite au 1/3.

FIG. **11**. Fragment d'un parasite plasmodial à noyaux contenant de volumineuses enclaves chromatiques. B. H.

FIG. **12**. Parasite au même stade. B. H.

FIG. **13**. Idem. Le dessin ne représente qu'un segment allant du centre à la périphérie de la plasmodie. B. H.

FIG. **14**. Fragment de plasmodie avec des noyaux au repos; les éléments extracaryosomiques sont bien visibles. B. H.

FIG. **15**. Idem. Le corps chromatique de réserve disparaît; le réseau chromatique est nettement visible et bien formé. B. H.

FIG. **16**. Même stade que le précédent avec divisions nucléaires. B. H.

FIG. **17**. Idem. Un axe achromatique paraît former le centre de la figure mitotique. B. H.

FIG. **18**. Stade plasmodial avec divisions nucléaires sans réserve chromatique dans les noyaux; elles appartiennent aux dernières divisions nucléaires. B. H.

FIG. **19**. Résolution de la plasmodie en éléments uninucléés; certains de ces noyaux montrent déjà une ébauche de division B. H.

FIG. **20**. Même stade plus avancé : plusieurs noyaux en voie de division; l'un des individus (à droite) possède deux noyaux-filles, résultat de la division. B. H.

FIG. **21**. Fragment d'un individu réduit en zoosporoblastes B. H.

FIG. **22**. Dans le protoplasme des zoosporoblastes apparaît une ébauche de filament, en rapport avec le noyau. Z. H.

FIG. **23**. De fins granules chromatiques apparaissent dans le protoplasme des zoosporoblastes. B. H.

FIG. **24.** Les enclaves chromatiques deviennent plus importantes; souvent en tigelle boudinée. B H.

FIG. **25.** Accentuation du même processus; les enclaves chromatiques se réduisent à un noyau accessoire généralement intensément colorable. Z. H.

FIG. **26.** Zoospores mûres; contenant un noyau auquel est accolé le noyau accessoire. B. H.

FIG. **27.** Zoospores et individus unis ou paucinucléés (comparez FIG. **2**) sortis du corps de la larve après éclatement spontané. Les zoospores possèdent un gros noyau accessoire postérieur assez peu colorable, un noyau piriforme antérieur, en relation avec le flagellum, et un petit amas de quelques granules réfringents. Les flagella apparaissent assez courts, parce qu'ils sont sectionnés par le rasoir. B. H.

FIG. **28.** Zoospore observée sur le vivant, composée comme indiqué ci dessus

FIG. **29—31.** Zoospores libres, composées comme indiqué ci-dessus Fixat. sur porte-objet à l'acide osmique, coloration GIEMSA. Le dessin est reproduit en ton sur ton; la préparation montre le noyau rouge franc, le noyau accessoire bleu sombre; les granules réfringents sont colorés en bleu. mais facilement décolorables. Quelques vacuoles dans le protoplasme.

FIG. **32.** Zoospore libre dans l'eau depuis plus d'une heure Acide osmique. H.

FIG. **33** Zoospore se transformant en amibospore. Acide osmique, GIEMSA. Coloration réelle comme pour les FIG. **29—31**, la partie inférieure du protoplasme très claire, partie supérieure un peu plus colorable.

FIG. **34.** Idem.

FIG. **35.** Amibospores possédant encore une ébauche de flagellum. Le dessin reproduit quatre aspects d'un même individu observé sur le vivant pendant environ 5 secondes.

FIG. **36—37.** Idem. Aspect sur le vivant, le prolongement inférieur, plus épais qu'un flagellum, bat rapidement; la partie supérieure protoplasmique est légèrement amiboïde.

FIG. **38.** Amibospores. Différents aspects d'un même individu vivant observé pendant 8 à 10 secondes.

FIG **39.** Amibospore. Acide osmique, GIEMSA. Coloration réelle comme pour les FIG. **29—31.**

PLANCHE II.

Formes d'hiver.

FIG. **40—42.** Parasites uninucléés, jeunes formes d'hiver observées dans une larve à infection simultanée par des formes d'hiver et d'été (mi-décembre). B. H.

FIG. **43.** Formes d'hiver jeunes uninucléées. S. H.

FIG. **44.** Formes d'hiver jeunes avec ou sans enclaves protoplasmiques. Les différents individus sont groupés en petit amas, séparés l'un de l'autre par une membrane hyaline devenue invisible sur la préparation éclaircie. Préparation provenant de la même larve que celle des FIG. **40—42**. B. H.

FIG. **45.** Forme d'hiver jeune, paucinucléée et sans enclaves. Même préparation que le dessin précédent. B. H.

FIG. **46.** Deux formes d'hiver observées sur le vivant, entourées d'une mince membrane hyaline. Le dessin ne reproduit qu'un segment des individus entiers, et est réduit au 1/3 du grossissement habituel.

FIG. **47** Forme d'hiver à épaisse membrane. Dessin fait d'après le vivant et réduit au 1/3.

FIG. **48.** Forme d'hiver; dessin réduit au 1/3 et montrant l'aspect de la membrane sur coupes colorées dans ce but. S. D.

FIG. **49.** Fragment d'une plasmodie forme d'hiver. B. H.

FIG. **50** Idem. S. H.

FIG. **51.** Idem, les noyaux sont en division. B. H.

FIG. **52.** Idem. L'allure particulière des noyaux représente probablement la préparation à la division. S. H.

FIG. **53.** Fragment d'une plasmodie forme d'hiver. Z. H.

FIG. **54.** Forme d'hiver se résolvant en plasmodies plus simples. Dessin réduit au 1/3. B. H.

FIG. **55—58.** Diverses formes d'hiver dessinées sur le vivant et représentant probablement des stades de dégénérescence de la forme sphérique normale. Dessin réduit au 1/3.

FIG. **59.** Idem. S. H.

FIG. **60.** Idem. B. H.

FIG. **61.** Idem. S. H.

FIG. **62.** *Amœbidium* intra-intestinal de la larve de *Simulium*. Coupe transversale d'un individu grêle Dessin réduit au 1/3. B. H.

FIG. **63.** *Amœbidium*. Coupe longitudinale d'un individu robuste passant à travers le point d'implantation sur la cuticule intestinale. Dessin réduit au 1/3. B. H.

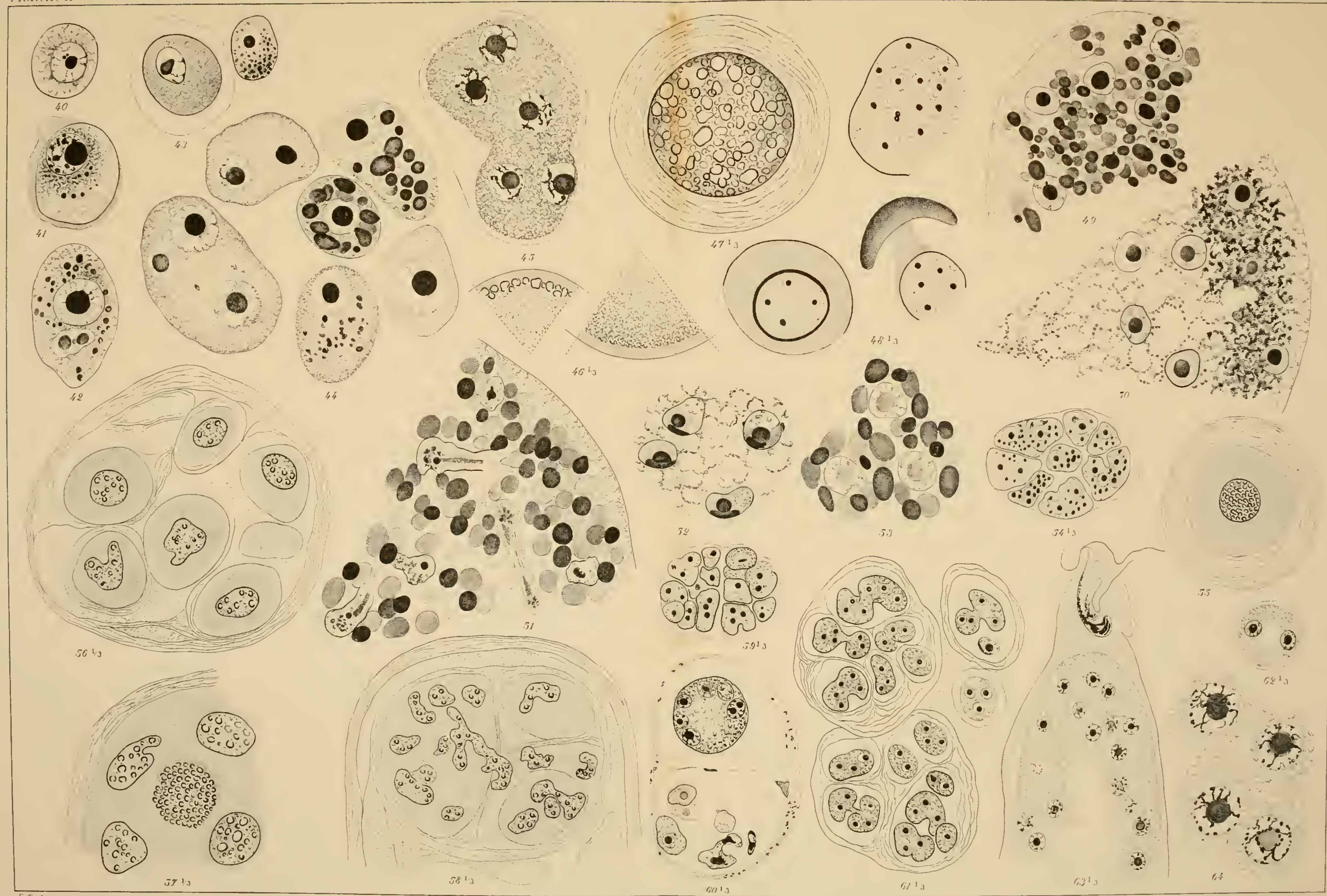
FIG. **64.** *Amœbidium*. Noyau. Vu au même grossissement que les formes d'hiver de *Cœlomycidium*, FIG. **45**, **53**, etc. B. H.

TABLE DES MATIÈRES.

Planche I



Planche II



F. Debaisieux ad nat. delin.

Notes sur le Myxidium liberkühni Bütsch

PAR

Paul DEBAISIEUX,

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 2 février 1918.)

Notes sur le Myxidium liberkühni Bütsch

En recherchant dans le brochet (*Esox lucius* L.) les myxosporidies que cet hôte héberge, nous avons trouvé des parasites des canalicules rénaux et des kystes parasitaires dans le tissu du rein. A part Pfeiffer (91) qui a cru observer des stades de *Myxidium liberkühni* dans les globules du sang, on a toujours considéré ce parasite comme exclusivement vésical. Thélohan (94) nous dit que « les espèces qui habitent les tubes rénaux ne se trouvent jamais dans la vessie et réciproquement ; le *Myxidium liberkühni* par exemple, hôte de la vessie urinaire du brochet, ne se rencontre jamais dans les uretères ou dans le rein. » Le fait que les parasites rénaux n'ont jamais été signalés par les nombreux auteurs qui ont étudié cette espèce, permettrait de croire à priori que ce sont des espèces nouvelles ; il serait curieux en effet, que des kystes parasitaires, visibles à l'œil nu, aient échappé à l'attention des observateurs, d'autant plus nombreux que le parasitisme par le *Myxidium liberkühni* est donné comme exemple par la plupart des manuels de pratique protozoologique.

Un examen minutieux montre cependant que ces parasites rénaux ne sont que des formes spéciales et des stades d'évolution du *Myxidium liberkühni ;* ils marquent, dans son mode de vie, des particularités non encore observées chez les myxosporidies et intéressantes au point de vue des rapprochements possibles avec d'autres groupes.

Il y a plusieurs années déjà que nous avons observé ces parasites pour la première fois ; afin d'en approfondir l'étude, nous nous sommes efforcé d'obtenir du matériel en abondance ; malheureusement les brochets sont devenus momentanément si précieux que nous avons eu de la peine à nous en procurer une dizaine. Ce fut assez pour susciter bien des énigmes, c'est trop peu pour répondre à la plupart ; peut-être pourrons-nous les solutionner en des temps meilleurs, quand les brochets seront plus accessibles aux recherches de laboratoire et que nous aurons pu nous procurer d'autres espèces de myxosporidies, qui serviront de matériel de comparaison.

Les brochets examinés furent pêchés aux environs de Louvain, dans la Dyle ou ses affluents, aussi bien en hiver qu'en été; ils mesuraient de 20 à 60 ctm. de long. Sur dix individus examinés, six présentaient dans le rein des kystes bourrés de parasites. Parmi ces six, cinq avaient des parasites dans les canalicules du rein et dans la vessie urinaire; deux portaient sur les branchies quelques rares tumeurs provoquées par l'*Henneguya psorospermica* Thél.

L'allure de l'infection vésicale et des parasites qui l'habitent est suffisamment connue par les mémoires spéciaux (Thélohan, 95, Cohn, 96) et par la plupart des traités, même élémentaires.

L'infection des canalicules rénaux se reconnaît aisément en dilacérant sur le vivant des fragments de rein et en les examinant au microscope : on observe alors des spores fusiformes à surface longitudinalement striée, à deux capsules polaires terminales et opposées, et l'on observe aussi de petits parasites plasmodiaux polynucléés irréguliers mesurant 5 à 20 μ. L'étude des coupes renseigne plus exactement sur la localisation et la structure des parasites. Ils sont accumulés dans la lumière des canalicules rénaux, fig. 2, 3, 4 *p*, 6, 7, à tous les niveaux et se rencontrent même, mais exceptionnellement, dans la lumière des capsules de Bowman qui entourent les glomérules de Malpighi, fig. 3, 4 *c*, *B*. Au point de vue de leur structure, ce sont des plasmodies polynucléées de dimension et d'aspect variables suivant le stade, fig. 6, 7 : on retrouve en effet dans ces plasmodies toutes les étapes de formation des spores de myxosporidies polysporées et des spores achevées. Ces parasites diffèrent des *Myxidium liberkühni* qui parasitent la vessie, parce qu'ils sont beaucoup plus petits ; nous ne les avons jamais vus ancrés aux parois épithéliales, comme cela s'observe dans la vessie; les noyaux y sont plus densément accumulés que dans les plasmodies vésicales; les spores sont généralement plus petites et plus trapues. Les fig. 6 et 7 montrent des spores dans les canalicules, la fig. 9 des spores observées dans la vessie, et ce sont là des exemples à dimensions moyennes; on trouve dans les canalicules des spores de 12 à 20 μ, dans la vessie des spores de 18 à 22 μ. La structure des spores est absolument identique dans les deux cas; il en est de même des noyaux plasmodiaux et des stades de sporogonie. Si l'on ajoute à cela que, dans les cas observés, il y avait constamment coexistence des deux infections, il apparaît clairement que les parasites des canalicules rénaux appartiennent à la même espèce que les parasites vésicaux ; les différences de dimensions sont dues sans doute à des différences de nutrition.

Les kystes parasitaires du rein se reconnaissent à l'œil nu ; ils se trouvent dans le tissu rénal, souvent superficiellement ; ce sont de petites sphérules blanches ou argentées, grosses parfois d'un millimètre ; ils sont souvent réunis à plusieurs, en petits amas, et ont l'apparence de minuscules bulles d'air qui seraient introduites dans les tissus ; une ou plusieurs dizaines de kystes, parfois une ou plusieurs centaines, sont éparpillés dans tout le rein ; ils ne forment cependant jamais qu'une très minime partie de la masse de l'organe.

Examinés à frais, ces kystes laissent échapper, dès qu'ils sont incisés, des centaines et des milliers de corpuscules de quelques μ de diamètre ; leur nature ne peut-être reconnue qu'après coloration et sur coupes. Sur coupes les kystes apparaissent isolés ou groupés ; ils mesurent 150 à 1000 μ. Le plus petit que nous ayons observé, FIG. 1, montre une localisation très particulière, qui paraît être typique ; le kyste est logé dans un glomérule de MALPIGHI et distend la capsule de BOWMAN qu'il emplit. Les kystes volumineux, et par conséquent plus âgés, sont plus irréguliers, souvent groupés à plusieurs et entourés de tissu rénal réactionnel devenu fibrillaire, FIG. 2 ; c'est cette membrane fibreuse épaisse qui donne au kyste examiné à frais ses reflets argentés. Toujours les kystes sont en rapport avec les glomérules de MALPIGHI ; mais un fait difficile à interpréter, c'est qu'un même kyste peut être en rapport avec deux ou plusieurs glomérules, FIG. 4. Il semble qu'en se développant il refoule les tissus rénaux jusqu'à entrer en contact avec des glomérules primitivement intacts. On rencontre parfois de vieux kystes presque complétement vidés de leur contenu, et envahis par du tissu conjonctif cicatriciel et par des leucocytes.

Chaque kyste contient, outre les individus parasitaires, un ou plusieurs noyaux considérablement hypertrophiés, FIG. 1, 2, 4. Ce ne peut être que le noyau de la cellule-hôte ; d'abord unique, il peut probablement se diviser et donner deux noyaux globuleux, FIG. 2, ou bien se développer considérablement et devenir irrégulier à contour peu distinct, FIG. 4.

Les parasites eux-mêmes qui remplissent le kyste forment des individus bien distincts ; ils plongent dans une substance fondamentale homogène, le protoplasme de la cellule-hôte ; ils sont tantôt tassés et serrés les uns contre les autres, tantôt ils sont, à certains endroits du kyste, un peu éparpillés et laissent des plages protoplasmiques presque libres, FIG. 2. Chaque individu est sphérique, mesure 3 à 6 μ ; il en est qui ne possèdent qu'un noyau, d'autres en possèdent trois, quatre et peut-être davantage ; il en est de tout bourrés de granules chromatophiles, d'autres à structure difficile-

ment analysable. Le plus souvent ils possèdent une membrane bien distincte; dans le protoplasme plus ou moins rétracté se trouvent deux noyaux à caryosome, et un ou deux noyaux, plus petits et plus irréguliers, sont en rapport avec la membrane, FIG. 5; nous ne sommes pas actuellement à même de décrire l'origine et le développement complet de ces parasites. Bien des détails ont pu être observés, mais ils ne forment pas un ensemble; il importe de remarquer cependant que, quelsque soient l'âge et la dimension du kyste étudié, — nous en avons observé des centaines, mais les tout petits n'ont pu être découverts, — l'allure générale des parasites qu'ils contiennent est la même. Une seule fois nous avons observé au centre d'un kyste déjà volumineux une plasmodie analogue à celle que l'on rencontre dans les canalicules rénaux, FIG. 8.

Les kystes sont en rapport avec les glomérules de MALPIGHI, et très fréquemment on observe que des parasites s'échappent en masse ou isolément dans la capsule de BOWMAN, FIG. 4, *c*, *B*. Là on les trouve parfois côte à côte avec des petites plasmodies parasitaires, et dans certains cas on a l'impression qu'en se développant ils donnent naissance à ces plasmodies. D'autres fois les parasites kystiques emplissent complétement la lumière d'un canalicule rénal et y sont entremêlés de spores et de tous les stades de sporogonie, isolés et non contenus dans des plasmodies, FIG. 6.

La première question qui se pose à propos des parasites kystiques, c'est de savoir s'ils représentent des stades d'évolution du *Myxidium liberkühni*.

Ils s'écartent tellement de tous les aspects connus des myxosporidies, il semble si étrange qu'ils n'aient jamais été observés par ceux qui ont étudié les parasites du brochet et ils sont si différents des stades d'évolution typique de cette espèce, que l'on serait tenté de les considérer comme un parasite nouveau. Leur étude attentive conduit cependant à conclure qu'ils représentent certainement un stade d'évolution du *Myxidium liberkühni*. Les parasites kystiques avec leurs deux noyaux centraux et les noyaux de membrane, ne peuvent être rangés dans aucun groupe de protozoaires, si ce n'est celui des myxosporidies; ils n'ont en effet d'analogie qu'avec les aspects du début de la sporogonie de ce groupe. D'autre part, l'existence — exceptionnelle il est vrai — au centre des kystes de plasmodies analogues aux plasmodies des canalicules, FIG. 8, l'absence dans le rein ou la vessie de tout autre stade pouvant appartenir à une myxosporidie d'espèce autre que le *Myxidium liberkühni*, le mélange dans les capsules de BOWMAN de pa-

rasites kystiques et de plasmodies, et surtout l'existence dans les canalicules de parasites kystiques intimement mélangés à tous les stades de sporulation du *Myxidium liberkühni* isolés, FIG. 6, prouvent à l'évidence que ces parasites constituent un stade de l'évolution du *Myxidium liberkühni*. Ce stade constitue-t-il une étape nécessaire de l'évolution de ce parasite ou bien est-ce un stade exceptionnel et accessoire; il faudrait, pour résoudre cette question, étudier un matériel beaucoup plus abondant que celui qui fut à notre disposition et provenant de stations différentes; dans les brochets que nous avons examinés, nous n'avons jamais observé d'infection vésicale qui ne fut accompagnée d'infection kystique du rein; le contraire n'est pas vrai, et il existe des kystes rénaux sans infection vésicale, mais ce fait ne contredit pas la conclusion, car l'infection vésicale peut être guérie, momentanément inexistante ou pas encore établie, alors que l'infection rénale existe.

Une interprétation donnée plus haut et qui considère les kystes comme des cellules-hôtes hypertrophiées et parasitées, mérite un mot de commentaire. L'existence des noyaux géants n'a pas été jusqu'à présent observée chez les myxosporidies, et la question se pose de savoir si ces noyaux appartiennent au parasite ou à une cellule-hôte hypertrophiée par le parasitisme. La première interprétation serait inconciliable avec tout ce que l'on connaît des myxosporidies; elle ne rendrait aucun compte ni de l'origine ni du rôle de ces noyaux et entraînerait une conception toute nouvelle et toute hypothétique de l'évolution des myxosporidies. La seconde interprétation cadre parfaitement avec les connaissances acquises sur les myxosporidies; elle admet simplement l'existence, à côté des stades libres, de stades intracellulaires. L'hypertrophie des cellules-hôtes parasitées est dans ce cas absolument comparable à celle qui a été plusieurs fois observée dans les cas de parasitisme par des microsporidies. Nous avons discuté dans d'autres mémoires, DEBAISIEUX et GASTALDI (15), DEBAISIEUX (16) la valeur des noyaux géants observés chez les myxosporidies. Le cas observé ici ne fait que confirmer les conclusions données alors, et ce nouvel exemple constitue un argument de plus pour affirmer le rôle hypertrophiant des parasites intracellulaires.

Nous nous défendons, faute de matériel et d'objets de comparaison, de parler des détails d'évolution du *Myxidium liberkühni*; nous ne voulons donner qu'un bref aperçu de la façon dont nous envisageons les relations

entre les divers aspects observés. L'infection typique est vésicale ; les plasmodies amiboïdes remontent dans l'uretère et dans les canalicules rénaux, jusque dans les capsules de Bowman, où on les rencontre parfois alors même que le glomérule est intact, fig. 3. Dans ces canaux le parasite évolue normalement et complétement, mais donne naissance — vu l'exiguité de l'espace et la nutrition moins abondante — à des formes plus petites, fig. 7. Le parasite peut aussi — nécessairement ou accessoirement — pénétrer dans des cellules de l'hôte et s'y développer en entraînant une hypertrophie considérable de la cellule, fig. 1, 2. A l'intérieur de la cellule, il n'y a pas d'évolution complète du parasite ; il n'y donne naissance qu'à des individus à deux gros noyaux et à un ou deux noyaux de membrane, fig. 5. Ces individus s'échappent de la cellule-hôte dans la capsule de Bowman, fig. 4, et dans les canalicules rénaux, où leur évolution progresse suivant un processus encore indéterminé.

BIBLIOGRAPHIE.

1896 *Cohn, L.* : Ueber die Myxosporidien von *Esox lucius* und *Perca fluviatilis;* Zool. Jahrb., Abt. Anat. und Ontog., t. 9.

1915 *Debaisieux* et *Gastaldi* : Les Microsporidies parasites des larves de *Simulium;* La Cellule, t. 30.

1916 *Debaisieux* : Études sur les Microsporidies. IV. *Glugea anomala* Monz.; La Cellule, t. 30.

1891 *Pfeiffer, L.* : Die Protozoen als Krankheitserreger; 2e édit., Jena, 1891.

1894 *Thélohan, P.* : Recherches sur les Myxosporidies; Bull. Scien. France et Belgique, t. 26.

EXPLICATION DES FIGURES.

Les dessins furent faits au prisme de Nachet, *projection au niveau de la table. Les figures* **5** *à* **9** *furent reproduites d'après la combinaison optique* Zeiss : *obj. imm.* 1.5 *mm.* × *ocul.* 18 *(gross. lin.* 3000). *Une échelle au bas de la planche rend compte de la dimension réelle de ces dessins. Les figures* **1**, **2**, **4**, *dessinées á l'obj. DD* × *ocul.* 6, *sont grossies* 330 *fois, réduites du* 1/9 *de l'échelle. La figure* 3, *dessinée à l'obj. A* × *ocul.* 6, *est grossie* 80 *fois, et par conséquent réduite au* 1/37 *de l'échelle.*

Tous les dessins sont reproduits d'après des coupes à 4 μ *colorées à l'hématoxyline de* Heidenhain.

FIG. **1.** Kyste du rein, relativement petit; il est bourré de parasites individualisés et contient au centre un noyau hypertrophié. Le kyste est logé dans le tissu d'un glomérule de Malpighi et complétement enveloppé par la capsule de Bowman, *c, B.* (DD × 6. gross 330.)

FIG. **2.** Groupe de kystes affleurant à la surface du rein; ils sont enveloppés de tissu fibrillaire réactionnel; dans plusieurs la coupe traverse un ou deux noyaux hypertrophiés; les parasites sont plus ou moins densément accumulés; dans deux kystes on voit le rapport qu'ils ont avec le glomérule de Malpighi et la capsule de Bowman (*c, B.*). Un grand nombre de canalicules rénaux sont diversement attaqués par la coupe; plusieurs sont remplis de parasites *(p)*. (A × 6. gross. 80.)

FIG. **3.** Glomérule de Malpighi normal; la capsule de Bowman se prolonge par le canalicule rénal. Le canalicule est bourré de parasites *(p)*. Un individu plasmodial est logé dans la capsule même. (DD × 6, gross 330.)

FIG. **4.** Kyste rénal de dimension moyenne. Il est bourré de parasites individualisés et contient un très volumineux noyau de forme irrégulière. Il est en rapport avec trois glomérules de Malpighi, et les parasites se déversent dans les capsules de Bowman (*c, B.*). Dans les canalicules rénaux et même dans une capsule, il y a des parasites plasmodiaux. (DD × 6, gross. 330.)

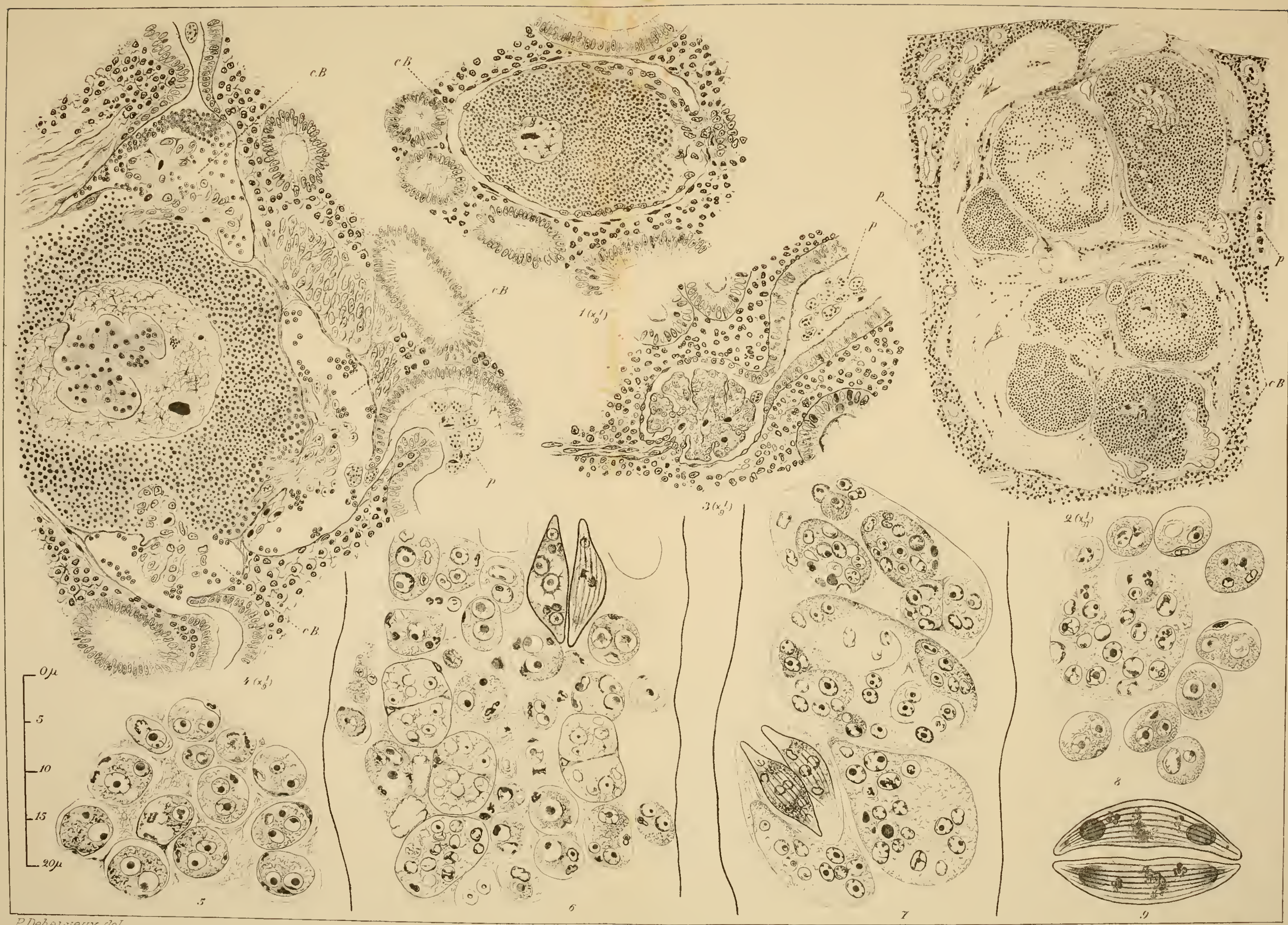
FIG. **5.** Portion de coupe d'un kyste; les parasites individualisés plongent dans le protoplasme du kyste. (1,5 × 18. gross 3000.)

FIG. **6**. Parasites dans un canalicule du rein. On y retrouve des parasites kystiques et tous les stades de sporogonie non contenus dans une plasmodie. (1,5 × 18, gross. 3000.)

FIG. **7**. Parasites contenus dans un canalicule du rein. Ce sont des parasites plasmodiaux; à leur intérieur on observe plusieurs stades de sporogonie (1,5 × 18, gross. 3000.)

FIG. **8**. Section de coupe d'un kyste; au milieu des parasites typiques à deux gros noyaux avec caryosome, il y a un gros parasite plasmodial. (1,5 × 18, gross. 3000.)

FIG. **9**. Spores contenues dans un parasite plasmodial de la vessie (1,5 × 18, gross. 3000.)



P. Debaisieux del. Lith. H. Jacob Brux. ...esemans sculp

Haplosporidium (Minchinia) chitonis Lank., Haplosporidium nemertis, nov. sp.,

et le groupe des Haplosporidies

PAR

Paul DEBAISIEUX,

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ.

INSTITUT DE ZOOLOGIE. — LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 20 mars 1920.)

Haplosporidium (Minchinia) chitonis Lank., Haplosporidium nemertis, nov. sp., et le groupe des Haplosporidies

INTRODUCTION.

Ce que l'on connait du genre *Haplosporidium* se réduit en somme aux observations de CAULLERY et MESNIL (05) et à celles de GRANATA (14). CAULLERY et MESNIL, en un travail très documenté, décrivent cinq espèces; ils en ébauchent, très judicieusement d'ailleurs, le cycle d'évolution. GRANATA fait l'étude très détaillée d'une espèce et l'accompagne de nombreux dessins, parlants comme des schémas; en ce qui concerne le cycle d'évolution, il semble cependant qu'il laisse dans l'ombre des faits essentiels et qu'il simplifie un peu trop des phénomènes qui, d'après l'étude des matériaux que nous avons sous les yeux, apparaissent en réalité plus complexes.

Des six espèces d'*Haplosporidium* antérieurement connues, quatre parasitent les Polychètes et deux les Oligochètes. Nous avons eu l'occasion de faire l'étude de deux espèces : l'une, indûment appelée *Minchinia*, parasite un Mollusque; l'autre, nouvelle, parasite un Némertien. L'étude de ces deux espèces donne des résultats tout à fait concordants ; nous décrirons simultanément leur évolution et ferons ressortir en un paragraphe final les traits caractéristiques qui les différencient. Les dessins, tous reproduits à la même échelle, sont répartis en deux séries : les dessins 1 à 35 se rapportent à l'*Haplosporidium chitonis*, les dessins 36 à 52 à l'*Haplosporidium nemertis*; nous avons cru bon de reproduire pour chaque espèce les stades essentiels, mais superflu de répéter deux fois les stades transitionnels; nous les avons choisis dans l'une ou l'autre espèce suivant qu'ils s'y présentent plus clairement.

MATÉRIEL, MÉTHODES, SYNONYMIE.

a) **Haplosporidium chitonis Lank.**

Ray Lankester (91) a figuré des spores remarquables, à deux longs appendices, l'un antérieur l'autre postérieur, découvertes dans *des* Chitons; il les attribue à des Coccidies du genre *Klossia* et crée l'espèce *K. chitonis*. Labbé (99) découvre dans *Acanthochites (Chiton) fascicularis* L., de Roscoff, de nombreux stades coccidiens et voit les spores de Ray Lankester dans *des* Chitons reçus d'Angleterre. Il fait rentrer ces divers stades dans le cycle d'évolution d'une même espèce, pour laquelle il crée un genre nouveau : *Minchinia*, espèce *chitonis* Mrs Pixell-Goodrich (15) retrouve dans le *Craspidochilus cinereus* L., de Plymouth, les spores décrites par Ray Lankester; elle fait une étude succincte du parasite au cycle duquel elles appartiennent, n'y retrouve pas les stades coccidiens observés par Labbé, mais l'identifie avec *Minchinia chitonis;* elle range ce genre parmi les Haplosporidies.

Dans une note préliminaire (19, *a*), nous avons fait ressortir qu'il existe dans les Chitons deux espèces très différentes, à propos desquelles s'est produit un imbroglio complet. Labbé a confondu sous le nom *Minchinia* des stades Coccidiens (parasites de *Acanthochites fascicularis*) appartenant à une espèce voisine des *Pseudoklossia* de Leger et Duboscq (15, 17) et des stades de sporulation d'Haplosporidie, ceux vus par Ray Lankester (parasites probablement de *Craspidochilus cinereus*). Mrs Pixell-Goodrich a étudié l'Haplosporidie dont Ray Lankester et Labbé ont vu les spores; elle la présente sous le nom de *Minchinia.* D'après nos recherches, cette espèce appartient indubitablement au genre *Haplosporidium.* Il convient donc de laisser tomber le nom générique *Minchinia* et de le remplacer par *Haplosporidium;* aucun des deux n'a la priorité; ils datent l'un et l'autre de 1899 (Labbé, 99, et Caullery et Mesnil, 99), mais le nom *Minchinia* prête à confusion parce que créé pour une espèce composite, et d'autre part le nom *Haplosporidium*, appliqué déjà à une demi-douzaine d'espèces, a acquis droit de cité dans la littérature.

Nous avons retrouvé en juin 1919 à Plymouth, à la station dite Rum Bay, c'est-à-dire à l'endroit signalé par Mrs Pixell-Goodrich, des *Craspidochilus cinereus;* la plupart étaient infectés par l'*Haplosporidium chitonis.* La description macroscopique de l'infection a été faite avec soin par Mrs Pixell-Goodrich ; comme elle nous avons observé des cas d'infection

avancée où la plupart des organes du tortillon intestinal, les glandes génitales, les branchies, les muscles de la sole pédieuse sont littéralement bourrés de parasites; il est vraiment remarquable qu'un animal infecté à ce point ne paraisse pas s'en porter plus mal et que des gonades où la masse des parasites l'emporte de loin sur les éléments nobles, paraissent encore fonctionnelles. Tous les individus infectés récoltés au mois de juin présentaient des parasites à tous les stades d'évolution. Mrs Pixell-Goodrich, examinant 83 individus infectés, récoltés d'octobre à avril, n'en trouve que deux, tous deux en octobre, qui présentent des parasites en multiplication. La conclusion est simple : l'évolution des parasites est arrêtée en hiver.

Les organes de Chitons infectés furent fixés à la solution de Bouin, débités en coupes de 3 à 5 μ colorées à l'hématoxyline de Heidenhain et au rouge Congo. La fixation du tortillon intestinal donne de très mauvais résultats; dès l'immersion dans le fixateur une sécrétion blanchâtre transsude par toute la surface du tortillon et forme un revêtement qui, sans doute, empêche la pénétration du fixateur; le fait est que les coupes du tortillon ne montrent que des parasites en très mauvais état de fixation. La fixation de la sole pédieuse et des branchies donne de bons résultats; quant à celle des gonades, spécialement des ovaires, elle donne des préparations parfaites.

b) Haplosporidium nemertis, nov. sp.

Nous avons récolté à la même époque, à Plymouth, à la station dite River Yealm, des exemplaires d'un grand Némertien, le *Lineus bilineatus*, Mc Intosch, qui hébergeaient un parasite nouveau. Nous n'avons trouvé que six exemplaires de *Lineus*, ce ne fut pas faute de peine, mais trois étaient infectés, et comme ils mesuraient environ cinquante centimètres de long et que l'infection était forte, nous eûmes du matériel en surabondance.

Quand on dilacère à frais des fragments de *Lineus* infecté, on observe des quantités de spores réfringentes, subsphériques ovalaires, mesurant 6-7 μ sur 3-4 ; elles sont fréquemment réunies à une cinquantaine, en petits amas, entourés d'une mince membrane; aucun détail de structure n'est visible sur le vivant, parfois on devine l'existence d'un opercule en un pôle.

Un grand nombre de tronçons de *Lineus*, appartenant à tous les niveaux du corps et ne mesurant qu'un demi-centimètre de long, furent fixés à la solution de Bouin, de Benda ou de Schaudinn, débités en coupes de 3 à 5 μ, colorées principalement à l'hématoxyline de Heidenhain. Les trois fixateurs se montrèrent utiles, mais différemment : le Bouin assure la

meilleure conservation totale des parasites et de ses rapports avec les tissus voisins ; le Benda dans les couches superficielles où il a bien pénétré, assure la meilleure conservation des noyaux du parasite ; le Schaudinn, plus brutal, fait ressortir avec clarté des stades un peu flous par les autres fixateurs. L'étude des préparations permet de suivre facilement l'évolution du parasite; elle révèle qu'il appartient sans conteste au genre *Haplosporidium* ; dans une note préliminaire (19, *b*), nous avons proposé de l'appeler *Haplosporidium nemertis, nov. sp.*

Les parasites à tous stades sont très nombreux dans les hôtes infectés; ils se trouvent surtout dans le tissu connectif qui sépare le tube digestif de l'assise interne des muscles longitudinaux et qui forme le feuillet médian des plissements en crête que l'épithélium intestinal projette dans la lumière du tube digestif; à bien des endroits, l'abondance des parasites est telle qu'ils forment une assise continue dans l'axe des replis et entre le tube digestif et les muscles. Parfois aussi il y a une légère infiltration de parasites entre les faisceaux des assises musculaires et dans le tissu sous-cutané. Dans les trois individus parasités observés, le développement des gonades était fort entravé ou nul, alors qu'à la même date, dans les individus indemnes, les œufs et les spermatozoïdes étaient très abondants et proches de la maturité.

Évolution de Haplosporidium chitonis et de H. nemertis.

a) Multiplication plasmodiale.

Les plus jeunes stades observés sont sphériques, ne mesurent guère que 5 μ de diamètre, ont un protoplasme granuleux dense assez colorable et contiennent deux noyaux accolés, fig. 1, 2, 36, 47 (partie claire). Les noyaux sont très généralement allongés et franchement accolés suivant leur grand axe; ils contiennent quelques travées chromatiques peu visibles, souvent une travée axiale bien marquée et parfois un gros granule chromatique très colorable.

Ce stade est très fréquent; il se rencontre soit dans la lumière d'une glande, soit dans un espace périviscéral, soit dans une lacune des tissus. Ces jeunes parasites, tombés dans la lumière glandulaire, peuvent sans doute être évacués et dégénèrent, ils peuvent également pénétrer dans l'une ou l'autre cellule, fig 1 (cellule épithéliale d'un canal ovarique), et ce fait

conduit à leur attribuer des mouvements actifs; ils peuvent enfin, tombés dans une lacune des tissus, être entraînés par le courant lymphatique et disséminés par tout l'organisme; c'est ce qui explique que l'on en rencontre, mélangés aux lymphocytes à divers endroits du corps, dans la lacune centrale des filaments branchiaux par exemple.

Notons que Caullery et Mesnil (05) ne dessinent que des stades jeunes binucléés et que Granata note qu'ils sont très abondants; il a cependant rencontré quelques stades uninucléés, mais admet qu'ils peuvent représenter des stades binucléés sectionnés par le rasoir.

Les noyaux appairés se divisent synchroniquement et parallèlement. Les mitoses, fig. **37**, s'observent rarement, et vu leur ténuité nous n'avons pas étudié le détail de leur évolution. Les noyaux-filles restent appairés. L'accroissement plasmodial comporte un petit nombre de divisions nucléaires et un accroissement du protoplasme qui fait atteindre au parasite un diamètre d'une vingtaine de microns au maximum. La plasmodie a, dans les cavités libres, des contours réguliers; dans les espaces étroits elle se moule sur les parois qui l'enserrent. Les noyaux ne s'accroissent guère, ils sont normalement accolés deux à deux, fig. **3**, **4**, **38**, mais le fait n'est pas tout à fait constant.

b) Préparation à la sporulation.

Nous employons à dessein une expression vague pour désigner cette période du cycle d'évolution; nous sommes persuadé qu'elle comporte des processus de fécondation; nous sommes également persuadé qu'ils n'évoluent pas suivant la description de Granata mais malgré de très patientes observations nous ne pouvons en donner une autre description certaine. L'abondant matériel que nous possédons ne nous permettant pas de solutionner définitivement la question de la fécondation, nous nous bornerons à exposer les hypothèses qu'elle suggère, en attendant que l'étude d'autres *Haplosporidium* les confirme.

Les noyaux appairés rencontrés dans les plasmodies de la période précédente s'accroissent, se séparent l'un de l'autre et paraissent pouvoir évoluer isolément, fig. **5**; d'autres fois ils s'accroissent en restant accolés, fig. **7**, **38**, et parfois l'on rencontre des aspects qui semblent indiquer la fusion de deux noyaux appairés, fig. **6**, **7**; ces aspects sont très rares et pas assez nets pour être probants.

Le corps plasmodial des parasites s'accroît considérablement à ce

moment de l'évolution. Les FIG. 10 à 17 qui se rapportent à *l'H. chitonis* ne reproduisent en moyenne qu'un tiers de la coupe du parasite; l'*H. nemertis*, de dimensions moindres, a pu être reproduit dans l'entièreté de sa coupe. Quand le parasite a acquis sa taille maxima, les noyaux ont un aspect très particulier, FIG 11, 40 : relativement peu nombreux, ils sont énormes, sphériques, contiennent de nombreuses et délicates travées chromatiques et un gros granule nucléolaire. La travée axiale, qui était généralement si nette dans les petits noyaux, n'est guère distincte à ce stade; nous croyons qu'elle existe ou plutôt que ses éléments existent, mais qu'ils se confondent avec les travées irrégulières qui emplissent le noyau.

La signification de ces noyaux énormes n'a pu être établie avec certitude. Sont-ils le résultat d'un simple accroissement des noyaux appairés qui ont évolué isolément? C'est possible, mais cela n'explique pas du tout la raison d'être de l'accroissement. Sont-ils le résultat d'une copulation autogamique entre les noyaux primitivement accolés et représentent-ils des noyaux zygotiques? L'hypothèse nous sourit beaucoup, mais nous n'avons su nous convaincre de son exactitude. On a vu plus haut que les noyaux appairés présentent parfois dès le début de leur accroissement des aspects qui font croire à un processus d'autogamie, FIG. 6, 7; au cours de leur accroissement, on observe parfois aussi des aspects qui semblent résulter de la fusion de deux noyaux, FIG. 8, 9; enfin quand ils sont déjà très développés, ils sont parfois largement accolés et paraissent devoir se fusionner, FIG. 10, 39. Il résulterait de ces faits que l'autogamie pourrait avoir lieu pendant toute la période d'accroissement nucléaire, soit entre petits, soit entre grands noyaux, et cela parait au moins étrange. D'autre part, nous devons reconnaître que malgré de patientes recherches, les aspects de la FIG. 7, de la FIG. 9, de la FIG. 10 n'ont été rencontrés qu'exceptionnellement, alors que tous les autres aspects ont été rencontrés des centaines et des centaines de fois. Cependant, en faveur de l'hypothèse de l'autogamie à ce moment, nous devons signaler combien les aspects observés ici ressemblent aux stades d'autogamie observés chez les *Thelohania* et les *Pleistophora* (DEBAISIEUX, 13, DEBAISIEUX et GASTALDI, 15.)

La comparaison avec les Microsporidies (voyez surtout *Thelohania multispora*) s'impose davantage si l'on envisage l'évolution ultérieure des gros noyaux plasmodiaux : ces noyaux subissent au moins deux cinèses successives qui ne sont pas séparées par une période d'accroissement, de sorte que la première est beaucoup plus grande que la seconde. Si les gros noyaux

représentaient de fait des zygotes, ces cinèses seraient sporogoniales et nous serions même tenté de croire qu'il existe une réduction chromatique post-zygotique semblable à celle qui fut reconnue chez les Aggrégates et les Grégarines par DOBELL et JAMESON (15, 20).

Les gros noyaux, FIG. 11, 40, subissent au moins deux cinèses successives. La première est annoncée, FIG. 12, par un léger allongement du noyau ; à son intérieur les travées se disposent suivant le grand axe, parallèlement, et forment un faisceau droit. Une travée, elle apparait souvent double, mieux marquée que les autres, forme l'axe autour duquel les filaments du réseau nucléaire viennent se grouper; ce sont les éléments constituants de la travée axiale primitive qui redeviennent visibles. Bientôt, sur ce fuseau apparaissent de nombreux granules chromatiques, FIG. 13, 41, qui se disposent en une espèce de plaque équatoriale; ils se portent aux pôles, FIG. 14, 15, où ils s'accumulent, FIG. 16. Le granule nucléolaire se divise en haltère et une moitié échoit à chaque noyau-fille, FIG. 15. Durant l'anaphase, le fuseau chromatique est formé d'un grand nombre de travées très grêles, FIG. 14, 15; lorsque les noyaux-filles s'individualisent, un long filament connectif, reliquat de la travée axiale, persiste entre eux, FIG. 17. Une période de repos suit la première cinèse, FIG. 17, elle ne comporte guère d'accroissement nucléaire et est suivie d'une seconde cinèse, plus petite, mais apparemment du même type que la première, FIG. 18, 19, 42. Enfin, les noyaux-filles semblables en plus petit aux grands noyaux observés au début de cette période, sont éparpillés dans le protoplasme continu, FIG. 20, 43.

D'après la description de GRANATA (14), appuyée sur des dessins qui paraissent très probants, les plasmodies multinucléées de *Haplosporidium limnodrili* se résolveraient en individus uninucléés qui représentent des gamètes. Les gamètes s'associeraient deux à deux, les noyaux se fusionneraient pour donner le noyau unique du sporoblaste. Nous observons dans les deux objets étudiés tous les aspects reproduits par GRANATA, mais nous en observons beaucoup d'autres, et c'est ce qui nous empêche d'admettre l'interprétation, cependant si simple, qu'il donne. Nous sommes également frappé de voir que tous les dessins de GRANATA qui se rapportent à cette période du cycle, montrent dans le noyau une travée axiale très marquée et un tassement vers le centre, de la substance chromatique. Ces aspects rappellent beaucoup les aspects de division que nous observons dans nos préparations, mais il semble que les fixateurs alcooliques employés par GRANATA aient entraîné des contractions anormales du caryoplasme.

Les plasmodies multinucléées, FIG. 17, 43. peuvent se résoudre en individus uninucléés, FIG. 20, 21, 43, 44, peut-être peuvent-elles également se fragmenter plus irrégulièrement et donner de petits individus à deux ou trois noyaux, mais en tout cas les noyaux uniques ou doubles continuent à se diviser, FIG. 22, 24, 25, 45, et il y a finalement production, sans copulation de gamètes, de petites plasmodies à deux noyaux, FIG. 26, 27, 46, 47. Ces petites plasmodies binucléées peuvent sans autre transformation donner les stades binucléés que nous avons décrits comme parasites jeunes, FIG. 1, 2, 36, et régénérer le cycle. La FIG. 47 représente un groupe d'éléments binucléés, fixés au sublimé-alcool; ils proviennent certainement de la fragmentation d'une grande plasmodie, les individus peu chromatiques correspondent indubitablement à de jeunes parasites binucléés. Dans les FIG. 25, 26, et probablement 28, on observe de petits parasites binucléés à protoplasme assez dense et bien limité qui rappellent, à s'y méprendre, les jeunes stades d'infection.

Le fait que les plasmodies binucléées peuvent évoluer pour régénérer le cycle, n'exclut pas que ces mêmes stades puissent subir l'autogamie nucléaire et donner naissance à des sporoblastes. M[rs] PIXELL-GOODRICH (15) décrit cette fusion nucléaire, fig. 5, et GRANATA croit la voir également; sa fig. 54 — à laquelle s'applique la même remarque que celle faite plus haut, et qui pour ce fait nous paraît suspecte — reproduit le moment de la fusion nucléaire. Dans les espèces que nous étudions ici, nous ne sommes pas parvenu à observer nettement cette fusion. Dans l'*Haplosporidium nemertis*, nous avons vu un seul aspect qui semble correspondre à une fusion nucléaire, FIG. 48[x]; dans l'*Haplosporidium chitonis*, on a parfois l'impression qu'il y a fusion, FIG. 27, mais pour l'une et l'autre espèce on a souvent l'impression que des individus uninucléés, FIG. 20 ou 42, 43, donnent d'emblée naissance à des sporoblastes, FIG. 28 ou 49.

En résumé, cette période comporte un grand accroissement des noyaux plasmodiaux, au moins deux cinèses, la résolution irrégulière de la plasmodie avec finalement production de sporoblastes uninucléés. Deux hypothèses sont possibles en ce qui concerne la fécondation : ou bien les gros noyaux plasmodiaux sont le résultat d'une autogamie, ou bien les noyaux de sporoblastes sont le résultat de l'autogamie de deux noyaux-filles. Il n'y a certainement pas copulation de gamètes.

c) Formation des spores.

Dès leur formation, les sporoblastes ont un protoplasme mal limité, à contours irréguliers, un noyau assez volumineux à fin réseau chargé de granules chromatiques, au milieu duquel apparait parfois une travée axiale à peine distincte. A côté du noyau, un amas chromatique irrégulier baigne dans le protoplasme, FIG. 27, 28. Les sporoblastes deviennent ovalaires, une capsule résistante se forme autour d'eux, le noyau tend à diminuer de volume, la masse chromatique paranucléaire perd sa chromaticité et se porte vers un pôle, FIG 29; mais en même temps des plages chromatiques, primitivement au nombre de deux, se forment dans le protoplasme et se développent jusqu'à confluer, FIG, 30 49, 50.

La spore s'achève par épaississement de la membrane et formation d'un clapet au pôle auquel s'est portée la masse chromatique paranucléaire; membrane et clapet fixent énergiquement l'hématoxyline, FIG. 31, 52. A l'intérieur de la spore, il y a un noyau sphérique régulier, le reliquat de la masse chromatique paranucléaire sous forme d'une inclusion homogène au pôle antérieur et du protoplasme abondamment chargé de substances chromatophiles, FIG. 30, 51.

La spore d'*Haplosporidium chitonis* se complique de la formation de deux longs appendices capsulaires, l'un antérieur excentrique, l'autre postérieur axial; ils se colorent moins vivement que la capsule elle-même sous l'action de l'hématoxyline, FIG. 31, 32.

d) Retour aux stades initiaux et multiplication végétative.

Nous avons dit plus haut que des stades binucléés, provenus par fragmentation des grandes plasmodies, FIG. 25, 26, 47, peuvent donner naissance aux petits individus binucléés que nous avons considérés comme parasites jeunes.

D'autre part, on observe souvent des parasites plasmodiaux à protoplasme spécialement dense et colorable, à contours irréguliers, à noyaux trop petits pour appartenir aux stades qui préparent la sporogonie normale, ou trop nombreux pour appartenir aux stades de la multiplication plasmodiale, FIG. 33, 34, 35. bref, des parasites qui paraissent appartenir à une période de multiplication végétative. Il est souvent malaisé de différencier nettement ces parasites de ceux décrits antérieurement, car aucun des caractères cités n'est probant et de nombreux parasites à caractères inter-

médiaires se rencontrent. — Certains de ces aspects, FIG. 1, 2, correspondent apparemment à ceux que M[rs] PIXELL-GOODRICH considère comme appartenant à la période trophique, à multiplication par plasmotomie; à ces stades, elle observe du protoplasme dense a contours irréguliers, contenant de nombreux granules et des noyaux informes; nous avons observé exactement les mêmes aspects dans des préparations mal fixées. — Notons que GRANATA (14) distingue également une phase schizogonique et une phase gamogonique, dont « la distinzione è assai poco netta », et qu'il croit que la phase schizogonique se résout en schizontes uninucléés. Nous n'avons pas observé cette résolution en schizontes et, quoique les aspects observés soient fort peu démonstratifs, nous nous demandons si les stades végétatifs ne prolongent pas simplement la période de multiplication plasmodiale sans qu'apparaissent les phénomènes préparatoires de la sporulation, et s'ils ne se résolvent pas, eux aussi, en germes binucléés, incapables de donner des spores par autogamie nucléaire mais capables de se transformer en parasites binucléés jeunes et de régénérer le cycle.

e) *Différences spécifiques.*

Haplosporidium chitonis de *Craspidochilus cinereus* a des spores ovalaires d'environ 10 μ sur 6, fermées au pôle antérieur par un large clapet, prolongées par un long appendice antérieur et par un long appendice postérieur, FIG. 31, 32; elles naissent en très grand nombre, au moins une centaine, aux dépens d'une même plasmodie. A la fin de la période de multiplication plasmodiale, les parasites contiennent de nombreux noyaux, FIG. 5; les stades qui préparent la sporulation sont relativement grands, atteignent jusqu'à 60 μ, et les noyaux sont grands, FIG. 10 à 20.

Haplosporidium nemertis de *Lineus bilineatus* a des spores ovalaires d'environ 7 μ sur 4, fermées au pôle antérieur par un large clapet, dépourvues d'appendices, FIG. 52; elles naissent en nombre restreint, une cinquantaine environ, aux dépens d'une même plasmodie, FIG. 51. A la fin de la période de multiplication plasmodiale les parasites contiennent peu de noyaux, FIG. 38; les stades qui préparent la sporulation, sont relativement plus petits que dans l'espèce précédente; ils ne mesurent guère que 30 μ et les noyaux aussi sont plus petits que dans l'espèce précédente, FIG. 39 à 42.

Les affinités du genre Haplosporidium.

Que les deux espèces étudiées ici appartiennent au même genre que les cinq *Haplosporidium* décrits par Caullery et Mesnil (05), cela ne fait pas de doute ; en relisant leurs descriptions, on pourrait en déduire la diagnose suivante : stades jeunes binucléés donnant des plasmodies à 4, 8, 16 petits noyaux; parfois apparaissent des plasmodies à grands noyaux relativement peu chromatiques; kystes multisporés, spores petites uninucléées, à paroi épaisse s'ouvrant en clapet, entourée d'une seconde paroi mince qui, suivant les espèces, est simple ou différenciée en deux appendices flagelliformes ou différenciée en un chevelu de flagelles disposés en deux touffes; dans la spore mûre ou bien au cours de la sporogonie, on observe un corpuscule accessoire à côté du noyau, au voisinage du clapet. — Caullery et Mesnil observent également la résolution de plasmodies en individus binucléés qui ressemblent fort aux individus binucléés jeunes, mais qui représentent probablement des stades de sporogonie : chaque noyau donnerait, par deux divisions successives, naissance à quatre sporoblastes (p. 109). — Que les deux espèces étudiées ici appartiennent au même genre que l'*Haplosporidium limnodrili* de Granata (14), cela mérite à peine d'être signalé : un coup d'œil jeté sur les dessins de cet auteur et sur les nôtres montre l'identité de tous les stades; leur interprétation et leur sériation seules prêtent à discussion.

Le genre *Haplosporidium* doit être rangé à notre avis parmi les Microsporidies. Caullery et Mesnil n'admettaient pas ce rapprochement et cela surtout parce que, confiants dans les observations de Stempel (02, 04) et d'autres, ils croyaient au caractère plurinucléaire des spores de Microsporidies; mais les recherches de Schuberg (10), de Ohmori (12) et les nôtres (15) ont nettement établi que les spores de Microsporidies ne possèdent qu'un seul vrai noyau; à ses côtés, dépendamment ou indépendamment de lui, naît un corpuscule chromatique qui paraît être en relation avec la formation de la capsule polaire.

Dès lors la spore des *Haplosporidium* ressemble bien fort à celle des Microsporidies; elle en diffère parce qu'elle possède un clapet mobile probablement en relation avec le corpuscule chromatique, et parfois des appendices externes. D'autre part, si l'on considère les divers stades d'évolution des Microsporidies, on constate la fréquence des jeunes stades ou des plas-

modies à noyaux doubles, la présence d'une travée nucléaire axiale apparente surtout au moment des cinèses, la présence de cinèses spéciales précédant immédiatement la formation des spores, la transformation de stades de sporogonie en stades initiaux, bref, d'étroites ressemblances avec les *Haplosporidium*. Si les grands noyaux plasmodiaux des *Haplosporidium*, FIG. **11**, **40**, ont la valeur de zygotes, ils établissent évidemment une parenté très étroite avec les *Thelohania*, mais nous avons vu que leur interprétation reste douteuse; il en est d'ailleurs ainsi en ce qui concerne la sexualité chez un grand nombre de Microsporidies.

A notre avis, et pour toutes ces raisons, la famille des *Haplosporidiidæ* doit être rattachée aux Microsporidies. On pourrait en faire un sous-ordre distinct, caractérisé surtout et opposé à toutes les autres Microsporidies par l'absence de la capsule polaire, qui est remplacée par un clapet mobile de la spore. On pourrait se demander si, phylogéniquement, ce sont des Microsporidies primitives ou si ce sont des Microsporidies régressées. Les documents sont insuffisants, et c'est malheureusement trop souvent le cas quand il s'agit de la phylogénie des protozoaires, pour aborder ce problème.

L'ordre des Haplosporidies.

En 1899, CAULLERY et MESNIL proposent la création d'un ordre nouveau de sporozoaires, les Haplosporidies. Ils en donnent une étude complète en 1905 et l'opposent aux Microsporidies, aux Myxosporidies, aux Actinomyxidies. aux Sarcosporidies. Ils y rangent une vingtaine d'espèces, dont la grande majorité ne sont qu'imparfaitement connues. Depuis, l'ordre des Haplosporidies a trop souvent servi de refuge aux espèces incomplètement étudiées qui, faute d'un état civil convenable, ne trouvaient droit de cité dans aucun autre ordre. Déjà en 1910 LEGER et DUBOSCQ considèrent l'ordre des Haplosporidies comme « un mélange hétérogène de formes d'affinités douteuses, dont les unes sont peut-être des Amœbiens, mais dont la plupart semblent se rapprocher des Mycétozoaires ou des Protophytes »; il est vrai qu'ils disent ailleurs : « de quelque façon qu'on l'entende, il n'a rien à voir ni avec les Télosporidies ni avec les Cnidosporidies ».

L'ordre des Haplosporidies comprend trois familles : 1) les *Haplosporidiidæ*, 2) les *Bertramiidæ*, 3) les *Cœlosporidiidæ*, plus 4) le précieux groupe des *Incertæ sedis*.

1) Nous venons de voir que les *Haplosporidiidæ*, qui forment d'ailleurs la famille la plus typique de l'ordre, doivent, à notre avis, être rattachées aux Microsporidies.

2) Dans la famille des *Bertramiidæ* il y a deux genres : *Bertramia* et *Ichthyosporidium*, que CAULLERY et MESNIL ont « groupés, au moins d'une façon provisoire,... la connaissance des spores pouvant amener à modifier ce groupement en faisant sortir les *Ichthyosporidium* de la famille des *Bertramiidæ*. » CAULLERY et MESNIL ne signalent que deux *Ichthyosporidium* : a) *I. gasterophilum*, qu'ils ne connaissent que par quelques stades ; il fut réétudié par ALEXIEFF (15) et ses observations, encore très incomplètes et hésitantes, indiquent que cette espèce doit être rapprochée des *Cœlosporidiidæ ;* b) *I. phymogenes*, qu'ils ne connaissent également que par quelques stades. Or, c'est à cette espèce que SWARCZEWSKY (14) rattache, et avec raison, à en juger par les dessins, l'*Ichthyosporidium giganteum* et l'*I. hertwigi*. Mais à notre avis (DEBAISIEUX, 16 a), ces trois dernières espèces doivent être rapprochées des Microsporidies, et il suffit de considérer la formation des spores d'*I. giganteum* telle que la reproduit SWARCZEWSKY, pour s'en convaincre.

Quant aux *Bertramia*, ils sont vraiment trop imparfaitement connus pour qu'il soit prudent d'émettre un avis sur leurs affinités (voir détails, DEBAISIEUX, 1916, b, p. 264).

3) A propos de la description d'un genre nouveau, *Cœlomycidium simulii*, nous avons établi (16, b) qu'il se rattache sans conteste aux divers genres de la famille des *Cœlosporidiidæ*, mais que d'autre part, il est certainement une Chytridinée. Il en résulte que toute la famille des *Cœlosporidiidæ* (au moins les genres suffisamment connus pour que l'on puisse discuter leurs affinités) doit être rattachée aux Chytridinées.

4) Les *Incertæ sedis* devraient, d'après CAULLERY et MESNIL « peut-être être rangés dans les Haplosporidies..., ayant certaines affinités avec eux. » Pour les *Metschnikoviellidæ*, CAULLERY et MESNIL (19) reconnaissent eux-mêmes : « nous ne pouvons souscrire à l'opinion d'AWERINZEW que ce sont des Haplosporidies. »

Et voilà cet ordre bien appauvri ! Que lui reste-t-il? Les *Bertramia*, mal connus, et les *Incertæ sedis !* C'est vraiment trop peu. L'ordre des Haplosporidies a rendu de grands services, il fut un bon casier provisoire dans la classification des protozoaires, mais maintenant que ce casier est presque vide de tout son contenu, il est bon de lui enlever son étiquette.

BIBLIOGRAPHIE.

1908 *Awerinzew* : Études sur les protozoaires parasites; Trav. Soc. Imp. Natur., St-Petersbourg, Sect. Zool. et Physiol., t. 38.

1899 *Caullery* et *Mesnil* : Sur le genre *Aplosporidium* et l'ordre nouveau des Aplosporidies; C. R. Soc. Biol.

1905 » Recherches sur les Haplosporidies; Arch. Zool. E. et G. (IV), t. 4.

1919 » *Metschnikoviellidæ* et autres protistes parasites des Grégarines; Ann. Inst. Pasteur, t. 33.

1913 *Debaisieux* : Microsporidies parasites des larves de *Simulium*; La Cellule, t. 30.

1915 » Études sur les Microsporidies, II et III; La Cellule, t. 30.

1916 *a* » Études sur les Microsporidies, IV; La Cellule, t. 30.

1916 *b* » *Cœlomycidium simulii;* La Cellule, t. 30.

1919 *a* » Quelques protozoaires parasites des Chitons et des Patelles; C. R. Soc. Biol., t. 82.

1919 *b* » *Haplosporidium nemertis;* C. R. Soc. Biol., t. 82.

1915 *Debaisieux* et *Gastaldi* : Microsporidies des larves de *Simulium;* La Cellule, t. 30.

1915 *Dobell* et *Jameson* : The chromosome cycle in Coccidia and Gregarines; Proc. Roy. Soc., t. 139.

1914 *Granata* : Ricerce sul ciclo evolutivo di *Haplosporidium limnodrili;* A. P. K., t. 35.

1920 *Jameson* : The chromosome cycle of Gregarines; Quart. J. Mic. Sc., t. 64.

1899 *Labbé* : Sporozoa; Tierreich, Berlin, Friedländer.

1910 *Léger* et *Duboscq* : *Selenococcidium intermedium* et la systématique des Sporozoaires; Arch. Zool. E. et G. (V), t. 5.

1915 » *Pseudoklossia glomerata;* Arch. Zool. E. et G., N. et R., t. 55.

1916 » *Pseudoklossia pectinis;* Arch. Zool. E. et G., N. et R., t. 56.

1912 *Ohmori* : *Nosema bombycis;* Arb. K. Gesundheitsamt, t. 40.

1915 *Pixell-Goodrich* : *Minchinia.* A Haplosporidian; Proc. Zool Soc., London.

1891 *Ray Lankester* : Encyclopedia Britanica, Article : Protozoa.

1910 *Schuberg* : Microsporidien aus dem Hoden der Barbe; Arb. k. Gesundheitsamt, t. 33.

1902 *Stempell* : Ueber *Thelohania mülleri;* Zool. Jahrb. (Anat.), t. 16.

1904 » Ueber *Nosema anomalum;* A. P. K., t. 3.

EXPLICATION DES FIGURES.

Objectif ZEISS 1,30 *dist. foc.* 1,5 × *oculaire* 18, *grossissement* 3000. *Tous les dessins, sauf le* 32 *qui est réduit environ au tiers, sont faits à la même échelle, projetés au niveau de la platine du microscope. Une échelle de comparaison, établie au micromètre oculaire de* ZEISS, *se trouve sur la planche I.*

La légende de chaque dessin est suivie de l'indication du fixateur : BOUIN *(B)*, BENDA *(Bd)*, *Sublimé-Alcool (S)*.

Haplosporidium chitonis Lank.

FIG. **1.** Parasite jeune à noyau double dans une cellule épithéliale d'un canalicule ovarique. B.

FIG. **2.** Parasite jeune à noyau double. B.

FIG. **3.** Multiplication plasmodiale, stade à six noyaux appairés. B.

FIG. **4.** Multiplication plasmodiale, stade à nombreux noyaux. B

FIG. **5** Multiplication plasmodiale, stade à quelques noyaux appairés, d'autres isolés. B.

FIG. **6.** Plasmodie à noyaux appairés, plusieurs paraissent présenter des phénomènes d'autogamie. B.

FIG. **7.** Plasmodie à noyaux appairés, plusieurs paraissent présenter des phénomènes d'autogamie. B.

FIG. **8.** Noyaux plasmodiaux en voie d'accroissement paraissant présenter des phénomènes d'autogamie. B.

FIG. **9.** Noyaux plasmodiaux en voie d'accroissement paraissant présenter des phénomènes d'autogamie. B.

FIG. **10.** Noyaux plasmodiaux de grande taille paraissant présenter des phénomènes d'autogamie. B.

FIG. **11.** Plasmodie à grands noyaux isolés au repos. B.

FIG. **12.** Préparation à la première cinèse. B

FIG. **13.** Première cinèse. B.

FIG. **14.** Anaphase de la première cinèse. B.

FIG. **15.** Anaphase de la première cinèse avec division du nucléole. B.

FIG. **16.** Télophase de la première cinèse. B.

FIG. **17.** Séparation des noyaux-filles après la première cinèse et noyaux au repos. B.

FIG. **18.** Deuxième cinèse. B.

FIG. **19.** Télophase de la deuxième cinèse. B.

FIG. **20.** Plasmodie après la seconde cinèse montrant une tendance du protoplasme à se segmenter pour former des individus uninucléés. B.

FIG. **21** Individus uninucléés provenant de la segmentation d'une plasmodie. B.

FIG. **22.** Individus uninucléés en cinèse. B.

FIG. **23** Individus à deux ou trois noyaux se préparant à la cinèse. B.

FIG. **24.** Individus à deux noyaux en télophase. B.

FIG. **25.** Plasmodie se résolvant en individus uni- ou binucléés; trois individus déjà isolés à protoplasme dense représentant sans doute les stades initiaux de la multiplication plasmodiale. B.

FIG. **26.** Plasmodie se résolvant en individus uninucléés dont les noyaux se divisent; parmi ceux-ci plusieurs à un noyau en division à deux ou à quatre noyaux régénèreront la période de multiplication plasmodiale, tandis que les autres donneront sans doute des spores. B.

FIG. **27.** Sporoblastes à grand noyau et corpuscule chromatique paranucléaire. Individus à deux noyaux qui sont peut-être destinés à se fusionner par autogamie. B.

FIG. **28** Sporoblastes avec corpuscule paranucléaire très chromatique. B.

FIG. **29.** Sporoblastes avec corpuscule paranucléaire moins chromatique et se portant vers un pôle. B.

FIG. **30.** Sporoblastes avec membrane en formation et ébauche du clapet; le corpuscule paranucléaire se trouve reporté au pôle antérieur; deux plages chromatiques apparaissent dans le protoplasme. B.

FIG **31.** Spore mûre; les appendices tranchés par le fil du rasoir ne sont qu'incomplètement représentés. B.

FIG. **32.** Spore mûre dessinée sur le vivant, d'après M[rs] PIXELL-GOODRICH, dessin réduit environ au 1/3, grossissement 1000.

FIG **33** Stade appartenant probablement à une multiplication végétative. B.

FIG. **34.** Stade appartenant probablement à une multiplication végétative. B.

FIG. **35.** Stade appartenant probablement à une multiplication végétative. B.

Haplosporidium nemertis, nov. sp.

FIG. **36**. Parasite jeune à deux noyaux accolés. B.

FIG. **37**. Parasite jeune à deux paires de noyaux; dans l'une d'elles les noyaux sont en cinèse. B.

FIG. **38**. Multiplication plasmodiale, noyaux appairés. B.

FIG. **39**. Accroissement des noyaux appairés Bd.

FIG. **40**. Plasmodie à grands noyaux, isolés, au repos. Bd.

FIG. **41**. Première cinèse. Bd.

FIG. **42**. Deuxième cinèse. Bd.

FIG. **43**. Plasmodie après la deuxième cinèse montrant la segmentation du protoplasme

FIG. **44**. Individus uninucléés; travée axiale bien marquée. Bd.

FIG. **45**. Individus uni- ou binucléés en cinèse. S.

FIG. **46**. Individus binucléés. Bd.

FIG. **47** Individus binucléés; les moins chromatiques correspondent aux jeunes stades binucléés de la multiplication plasmodiale. S.

FIG. **48**. Individus binucléés; dans l'un d'eux (×) il paraît y avoir autogamie nucléaire. Bd.

FIG. **49**. Sporoblastes à corpuscules paranucléaires très peu colorés disposés au pôle; des plages chromatiques apparaissent dans le protoplasme. Bd.

FIG. **50**. Sporoblastes à plages chromatiques du protoplasme mieux marquées. Bd.

FIG. **51**. Sporoblastes plus avancés. Bd.

FIG. **52**. Spores mûres. Bd

TABLE DES MATIÈRES.

Planche I.



J. Debaisieux ad nat. del

Lith H. Jacob St Gilles Brux.

F. Desesmans Sculp

Planche II

24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52

Recherches sur la maturation des œufs parthénogenétiques

DANS L'APHIS PALMÆ

PAR

le B[on] V. B. de BAEHR.

(Mémoire déposé le 25 mars 1920.)

Recherches sur la maturation des œufs parthénogenétiques
DANS L'APHIS PALMÆ

Dans nos travaux de 1908, 1909 et 1910 nous avons décrit la formation des œufs parthénogenétiques dans certaines espèces de pucerons. — Nos recherches avaient alors principalement en vue d'élucider les relations chromatiques entre les deux sexes, et à cet effet il n'était pas absolument nécessaire d'examiner en détail les stades qui précèdent le grand accroissement des oocytes, d'autant plus que précisément les formes dont nous nous occupions sont, sous ce rapport, d'une étude fort difficile.

La grande importance des phénomènes de parthénogenèse en même temps que la grande indigence et l'incertitude des données de la littérature concernant les premiers stades de l'ovogenèse, — stades qui, à notre avis, doivent fournir la clef d'une interprétation, — nous ont engagé à entreprendre une étude plus détaillée de la formation des chromosomes dans la prophase maturative des œufs parthénogenétiques. La nécessité des recherches de ce genre nous parut d'autant plus urgente que les travaux de Kühn (1908) sur les œufs parthénogenétiques des Cladocères et de Schleip (1909) sur ceux des Ostracodes prétendent établir la ressemblance des stades de maturation dans les œufs normaux avec les stades de maturation dans les œufs parthénogenétiques.

Quoique les observations de Kühn et de Schleip ne puissent passer pour suffisamment précises et détaillées (Grégoire 1910), néanmoins les adversaires de la conjugaison parallèle des chromosomes n'ont pas tardé à en profiter comme d'un argument irréfutable contre cette hypothèse. Se fondant sur le fait que les étapes caractéristiques de la prophase de maturation (leptotène, zygotène, pachytène, diplotène ou strepsitène) s'observent aussi bien dans les œufs qui gardent le nombre normal de chromosomes et

ne forment qu'un polocyte que dans les œufs où le nombre se réduit et qui expulsent deux globules polaires, ces savants en concluent que ces diverses images ne peuvent en aucune façon passer pour une expression morphologique des processus réducteurs. - Wo bleibt da die Theorie? - demandait GOLDSCHMIDT (1908) aux partisans de la paraconjugaison après avoir cité les résultats de KÜHN et c'est par cette moquerie qu'il termina une de ses polémiques (cf. aussi KEMNITZ, 1913).

Quoique les pucerons que nous avons étudiés autrefois ne fussent pas un objet favorable pour une étude détaillée des premiers stades d'ovogenèse, néanmoins nous nous sommes décidé à rechercher dans ce groupe même une forme plus favorable. Nous l'avons trouvée dans une espèce qui chez nous, à MAKOWLANY (Pologne), se fixe sur les palmiers de serre chaude *(Latania)*.

Jusqu'à présent nous n'avons pas pu déterminer cette espèce. Aussi, à l'exemple de Miss STEVENS, qui nomme les pucerons d'après les plantes sur lesquelles ils se tiennent, nous donnerons dans notre mémoire à ce puceron le nom d'*Aphis palmæ*.

Technique.

Nous avons employé surtout les embryons enlevés du corps de la mère. Dans les tubes ovariques nous trouvons non seulement des œufs à tous les stades de maturation, mais aussi des œufs en segmentation.

Pour la fixation nous nous sommes servi des liquides de FLEMMING (fort et faible) et de HERMANN et aussi du sublimé acétique. Ce sont les deux premières solutions qui nous ont donné, comme dans nos recherches précédentes, les meilleurs résultats.

Pour faciliter la pénétration du fixateur nous écartions généralement la partie antérieure de l'embryon ou bien nous enlevions aux embryons sous la loupe les tubes ovariques et nous les placions tout de suite dans le liquide préparé.

Les coupes, d'une épaisseur de 3-5 μ, furent colorées à l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN ou par le procédé safranine-vert lumière. Nous avons employé avec grand succès la méthode de SCHNEIDER au carmin acétique pour l'étude des chromosomes sur matériel frais.

I. Structure des ovaires parthénogenétiques.

Avant d'aborder l'étude de l'évolution chromatique, nous croyons utile de décrire en quelques mots la structure des ovaires de notre puceron, en marquant tout de suite que cette description confirme complétement les résultats de nos travaux précédents (1908-1910) sur d'autres espèces de pucerons.

Dans les embryons très jeunes, chez lesquels les tubes ovariques sont encore réduits à la chambre terminale, c'est-à-dire à l'ovaire proprement dit, on peut voir sous une mince couche épithéliale la différenciation des cellules ovariques en des cellules plus grandes — nourricières (vitellines) — et des cellules plus petites — les oocytes.

Les cellules nourricières, qui ne sont d'ailleurs que des cellules virtuellement sexuelles adaptées à une fonction nutritive, se trouvent dans la partie supérieure de l'ovaire. Elles possèdent un grand noyau clair avec un nucléole rond entouré de petits granules chromatiques. Les oocytes occupent la partie inférieure de l'ovaire et contiennent en concordance avec leurs petites dimensions des noyaux plus petits, FIG. 1 3.

Le plasma et le noyau des oocytes ne tardent pas à grandir.

Le plus grand des oocytes sort du compartiment terminal, l'épithélium du tube ovarique se presse entre lui et le compartiment et ainsi se forme la première chambre ovarique. L'oocyte ainsi isolé demeure attaché à l'ovaire au moyen d'un cordon plasmatique. Les FIG. 1-2 montrent des coupes longitudinales des tubes parthénogenétiques.

Sur ces dessins et aussi sur la FIG. 10, on voit nettement le cordon plasmatique qui unit le compartiment terminal à l'oocyte, à l'œuf ou plus tard à l'embryon. La fonction nutritive de ce cordon ne laisse place à aucun doute. La FIG. 3 nous montre une coupe un peu oblique de la partie inférieure de la chambre terminale, et on n'y voit que des oocytes.

Dans la chambre ovarique l'oocyte grandit énormément, élimine déjà, comme l'œuf mûr, un seul globule polaire et, avant que la nouvelle chambre se forme, parcourt généralement les premiers stades du développement embryonnaire. Sa nutrition est assurée non seulement par le cordon nutritif qui lui amène l'aliment des cellules vitellines, mais aussi par l'organisme maternel, qui baigne du liquide de son corps la chambre ovarique. Il est clair que la couche très mince des cellules épithéliales du tube ovarique ne peut empêcher la pénétration des substances nutritives. — Au fur et à

mesure que l'embryon se développe un nouvel oocyte sort du compartiment terminal et de cette façon se forment de nouvelles chambres ovariques.

Sans entrer ici dans une longue discussion au sujet de la structure des ovaires des pucerons, nous voudrions du moins indiquer brièvement les différences principales entre nos résultats et ceux des travaux les plus récents (1).

D'après Miss Stevens (1905), l'intérieur de la chambre terminale ne comprendrait qu'une espèce de cellules, les oocytes. Les dessins de Miss Stevens nous permettent de supposer que dans le compartiment terminal l'auteur n'a pas vu les vrais oocytes, mais seulement les grandes cellules nourricières, qu'elle a prises indûment pour des oocytes.

Dans les travaux de Mordwilko (1907), consacrés à la biologie des pucerons, nous avons trouvé une mention, d'où il résulte que l'auteur admet l'existence des cellules nourricières, mais seulement dans l'ovaire d'hiver, c'est-à-dire dans les ovaires des femelles sexuelles ; dans le compartiment terminal des femelles parthénogenétiques l'auteur ne décrit, comme Stevens, que des oocytes.

Enfin, Tannreuther (1907), contrairement à ses prédécesseurs, distingue dans les ovaires des femelles parthénogenétiques, outre l'épithélium extérieur du tube ovarique, deux espèces de cellules — les cellules vitellines et les oocytes. Cela est d'accord avec nos observations. Mais d'autre part Tannreuther admet que les oocytes proviennent des cellules épithéliales du tube ovarique et que ce n'est que plus tard qu'ils se réunissent avec le « nutritive string ». Cela serait bien étonnant, mais l'auteur semble avoir pris les mitoses des cellules épithéliales pour des cinèses oogoniales.

II. Ovogenèse.

Chez l'*Aphis palmæ*, comme chez les autres espèces de pucerons, nous n'avons observé la division oogoniale que dans les embryons assez jeunes, chez lesquels les ovaires commençaient justement à se différencier. Généralement un grand nombre des oogonies se divisent en même temps (synchroniquement).

(1) Une discussion historique des principales publications sur la structure histologique des tubes ovariques chez les femelles parthénogenétiques et chez les femelles sexuelles se trouve dans nos travaux antérieurs (1909 et 1910).

Les mitoses ne se distinguent par aucun caractère spécial. Le nombre de chromosomes y est de *huit*. Dans les jeunes oocytes, qui se trouvent, comme nous l'avons mentionné plus haut, dans la partie inférieure de l'ovaire, nous avons constaté des images très nettes du stade leptotène (FIG. 4 et 5). Le contenu du noyau consiste ici en filaments chromatiques minces, qui s'orientent dans des directions différentes et entourent un petit nucléole.

Les filaments chromatiques sont concentrés au milieu du noyau, ce qui dépend sans doute d'une grande sensibilité de ce stade aux réactifs et de l'accroissement du volume du noyau. — Quoi qu'il en soit, les filaments ainsi amassés n'ont pas dans notre objet cette polarisation caractéristique que nous sommes habitué de voir dans les autres formes.

De ce peloton sortent des bouts libres de filaments — ce qui prouve que nous avons ici des filaments *indépendants* et non un seul filament continu, comme l'admettent encore pour ce stade différents auteurs (par ex. HAECKER, MEVES, BUCHNER, etc.).

Il faut en effet remarquer que la facilité avec laquelle on peut toujours constater, presque dans chaque noyau, les bouts libres de ces filaments, exclut la supposition que nous aurions ici à faire avec les segments d'un seul filament, entamé par le rasoir.

Une observation plus précise démontre parmi ces filaments chromatiques des dualismes. Nous sommes en réalité en présence de filaments minces associés deux à deux. On voit cela le plus distinctement dans les points où, de la masse générale, émerge quelque filament libre : les composants qui le forment sont nettement séparés sur une certaine distance.

Les dualismes des éléments dans ces noyaux et leurs structures correspondent aux images qui sont connues sous le nom de « la phase leptozygotène » (GRÉGOIRE), c'est-à-dire une phase dans laquelle les partisans de la paraconjugaison de chromosomes (GRÉGOIRE, SCHREINER, JANSSENS, BÆHR et autres) et les partisans de la paracopulation de chromosomes (WINIWARTER, BONNEVIE, VEJDOVSKY) voient justement un processus de l'association en paires des chromosomes homologues.

En ce qui concerne la structure même de ces filaments, chacun d'eux, d'après beaucoup d'auteurs, se composerait d'un filament achromatique le long duquel seraient placés en une rangée les granules chromatiques — des chromomères. Les chromomères des composants qui constituent un filament double se correspondent mutuellement dans leur nombre, leurs dimensions et la place qu'ils occupent sur la substance achromatique et composent ainsi une série bisériale régulière.

En décrivant ainsi la structure des filaments doubles, les différents auteurs ne sont pas d'accord sur leur genèse. Les uns (Goldschmidt, Buchner, Davis) voient dans la disposition bisériale des chromomères un argument décisif en faveur de la genèse du duplicisme dans le peloton leptotène par un clivage longitudinal d'un filament d'abord muni d'une rangée unique de chromomères; les autres, comme A. et K. E. Schreiner, expliquent la correspondance complète entre les chromomères des composants qui forment le filament double par la conjugaison parallèle des chromosomes, qu'il faut regarder non pas comme une conjugaison des chromosomes entiers, mais comme une conjugaison des granules homologues — un chromomère avec un chromomère (1).

Dans l'*Aphis palmæ*, pas plus que dans les autres objets que nous avons examinés sous ce rapport, nous n'avons pu constater cette différenciation de la substance nucléaire en filaments achromatiques et en granules chromatiques placés par paires sur les premiers.

D'après nos recherches surtout sur le matériel frais coloré par le carmin acétique, il est évident que la substance qui forme les filaments est d'une seule sorte, à savoir, de la chromatine. Les chromomères ne représentent rien d'autre que des épaississements de différentes formes et de différentes grandeurs sur les filaments et sont naturellement de même substance que les filaments.

Les images que nous donnent les auteurs mentionnés plus haut, peuvent être expliquées par l'influence des réactifs et aussi par une schématisation des aspects (Grégoire, 1910, Bonnevie, 1913).

En ce qui concerne le nombre des filaments doubles, il est difficile à ce stade de le déterminer à cause de la longueur considérable des filaments, de leur concentration et des sinuosités qu'ils décrivent, mais cela n'est pas nécessaire, parce que nous pouvons avec facilité les compter aux stades suivants quand ces filaments doubles, en se raccourcissant et s'épaississant, se transforment en des chromosomes diacinétiques typiques. Leur nombre alors est sans aucun doute *quatre*, et le nombre des composants qui les for-

(1) Gérard (1909) admet chez l'orthoptère *Stenobothrus biguttulus* la conjugaison parallèle non pas entre filaments leptotènes homologues indépendants, ainsi que divers auteurs l'ont décrit chez d'autres orthoptères, mais entre deux filaments continus dans lesquels toute la substance chromatique du noyau se trouve transformée. Pendant l'appariement de ces deux gamomites les granules correspondants prennent place vis-à-vis l'un de l'autre et forment ainsi sur le filament double des paires de chromomères.

ment, huit. C'est ce qui correspond parfaitement au nombre de chromosomes spermatogoniaux et somatiques.

La FIG. 6 nous montre un noyau dans lequel nous apercevons 4 *doubles* chromosomes diacinétiques. Comme nous le voyons, l'union entre les composants de ces chromosomes diacinétiques n'est pas très étroite. Sur la figure suivante, FIG. 7, où nous avons un stade plus avancé, de quatre doubles chromosomes, deux se sont déjà disjoints de leurs composants, qui se trouvent maintenant à une certaine distance l'un de l'autre, et les deux autres chromosomes retiennent encore leur structure double, mais celle-ci ne se manifeste à vrai dire que dans une association très lâche des chromosomes appariés.

A un stade ultérieur les noyaux ne montrent plus de chromosomes doubles, mais seulement des chromosomes *simples* et alors nous en comptons naturellement le nombre double (8) — c'est-à-dire le nombre qui correspond au nombre de chromosomes spermatogoniaux et somatiques.

Les chromosomes se raccourcissent alors, s'arrondissent et montrent une tendance à se concentrer au milieu du noyau, FIG. 8. Plus tard les chromosomes se dégagent de nouveau, s'allongent un peu, et un clivage longitudinal apparaît, FIG. 9.

C'est lorsque le noyau a atteint ce stade que l'oocyte déjà assez grand, quitte le compartiment terminal et passe dans la première chambre ovarique, où bientôt il atteint un volume considérable, FIG. 10—12.

Pendant cet accroissement le plasma et le noyau augmentent de dimension. La structure des chromosomes subit des changements radicaux : ils allongent de plus en plus, leurs contours deviennent moins lisses, la chromatine perd peu à peu sa compacité — enfin toute la substance dans l'intérieur du noyau prend la forme de filaments pâles et minces ou de masses granuleuses qui se prêtent difficilement à l'analyse, FIG. 12, 13.

Parallèlement avec ces changements dans les chromosomes, il apparait au centre du noyau un nucléole arrondi qui grandit et se colore intensément, FIG. 10—13.

Quand l'oocyte a atteint une grande dimension, son noyau se dirige vers la périphérie et de nouveau se forment rapidement des chromosomes compacts.

Les petites vacuoles qui ont apparu dans le plasma se fusionnent en des vacuoles grandes et celles-ci à leur tour se réunissent entre elles.

Le noyau probablement, en cédant une partie de sa substance liquide au protoplasme, diminue de volume et immédiatement entre en mitose.

Le fuseau se forme clairement aux dépens du noyau ainsi que cela est constaté pour beaucoup d'autres objets. A ce stade nous n'avons jamais observé ni centrosomes ni fibres polaires.

La cinèse polaire ne montre rien d'extraordinaire et nous l'avons déjà décrite en détail dans nos précédentes publications (1908—1910) pour beaucoup de formes (v. notre mémoire 1909, pl. 12, fig. 11—14; pl. 13, fig. 20, 21, 23—25, 32; pl. 14, fig. 39, 41, 42). Nous ne nous y arrêtons pas, nous mentionnerons seulement que les chromosomes s'y divisent suivant la ligne longitudinale qui a apparu déjà à un stade antérieur, FIG. 7.

Après l'élimination d'un seul globule polaire, les chromosomes de la plaque anaphasique qui reste dans l'œuf se rapprochent, se concentrent et autour d'eux se forme la membrane. Le noyau, reconstruit de cette manière, descend au centre de l'œuf. Les chromosomes commencent à perdre leur compacité, leurs contours deviennent de plus en plus indistincts et le stade de repos s'établit.

Le globule polaire, qui forme maintenant une masse compacte de chromatine fort colorée, se trouve plongé dans le plasma, où il dégénère (v. fig. 15, 29 de notre publication de 1909).

Dès avant la formation du I fuseau de segmentation, on peut voir très souvent aux deux pôles opposés du noyau les fibrilles astériennes.

Quand le I fuseau de segmentation est formé et de même pendant les mitoses suivantes, les fibrilles ressortent encore plus nettement.

Les chromosomes des figures de segmentation se comptent facilement dans les vues polaires : ils sont au nombre de huit.

On y distingue des paires : une paire de grands chromosomes, une paire de moins grands et deux paires de petits.

En comparant les chromosomes qui appartiennent aux cellules de différentes générations, on voit que leurs formes et leurs dimensions subissent des changements, mais la relation entre les différentes dimensions, reste la même. Nous trouvons toujours les mêmes différences relatives de dimensions entre les trois types de paires. Ce fait nous enseigne qu'à l'*Aphis palmæ*, comme aux autres pucerons étudiés auparavant par nous et par Miss Stevens, on peut avec beaucoup de probabilité appliquer l'hypothèse de Montgomery (1901), qui prétend que dans l'œuf fécondé à chaque chromosome maternel provenant de l'œuf correspond un chromosome paternel morphologiquement égal provenant du spermatozoïde.

III. Examen de la littérature concernant la maturation des œufs chez les pucerons vivipares.

Blochmann (1887) fut le premier à étudier les phénomènes de la maturation des œufs chez les pucerons. Il découvrit que les œufs parthénogenétiques des femelles vivipares de *Forda formicaria* et d'une autre espèce non déterminée qui habite sur l'*Ipomea rubracoerulea* forment seulement *un* seul polocyte, tandis que les œufs d'hiver des femelles sexuelles de l'*Aphis aceris* en éliminent *deux*.

Seize ans plus tard Petrunkewitch (1903), influencé par les résultats qu'il avait obtenus en étudiant les œufs parthénogenétiques de l'abeille, mit en doute, d'après quelques stades seulement qu'il observa dans les œufs parthénogenétiques du *Rhopalosyphum nymphææ*, les données de Blochmann. Par analogie avec les observations sur les œufs de l'abeille, Petrunkewitch conclut que dans les œufs parthénogenétiques chez le *Rhopalosyphum nymphææ* deux globules polaires se forment. Le premier globule polaire se divise et alors sa moitié intérieure se fusionne avec le second globule polaire en donnant le « Richtungskopulationskern ». Mais ces observations superficielles de Petrunkewitch sur le *Rhopalosyphum* pas plus que ses recherches sur l'abeille, n'ont trouvé aucune confirmation dans les travaux des cytologistes plus récents.

Un peu plus tard Stschelkanovzew (1904) a publié un travail sur la maturation des œufs parthénogenétiques de l'*Aphis rosæ*. Stschelkanovzew n'a pas étudié les cellules dans l'ovaire, mais il a suivi les phénomènes de maturation seulement dans les oocytes qui se trouvent déjà dans la première chambre ovarique.

D'après la description de l'auteur, l'oocyte, au moment où il vient de quitter le compartiment terminal, possède un noyau dans lequel on ne peut pas découvrir même des traces des chromosomes; il existe seulement au centre du noyau quelques granules chromatiques. Outre ces granules, que Stschelkanovzew prend pour de petits restes du filament chromatique en dissolution, on trouve en petite quantité, près de la périphérie de la membrane nucléaire des nucléoles et des granules chromatiques de différentes dimensions.

Au stade suivant Stschelkanovzew observe qu'au centre du noyau la chromatine a complétement disparu ; près de la périphérie du noyau, sous la membrane apparaissent de nombreux petits nucléoles chromatiques.

Stschelkanovzew admet que la plupart de ces nucléoles périphériques se forment de novo au voisinage de la membrane comme de petits granules et se dirigent vers le centre en grandissant peu à peu. Il compare ces phénomènes au processus de la formation des chromosomes dans le cyste de l'*Actinosphærium* décrit par Hertwig. Stschelkanovzew suppose que la formation de ces nouveaux nucléoles dans la vésicule germinative est en relation causale avec la vacuolisation du plasma de l'oocyte. Il en résulte que le noyau reçoit du plasma le matériel destiné à former nouvellement des chromosomes. Pendant le développement ultérieur les nucléoles s'approchent de plus en plus du centre du noyau et se réunissent en filaments. Les filaments eux-mêmes forment à la fin un seul cordon chromatique, qui enfin se segmente en 14 chromosomes. C'est ce même nombre de chromosomes que Stschelkanovzew compte dans la plaque équatoriale de la seule mitose de maturation qu'il a rencontrée; à la prophase de la première cinèse de segmentation il en trouve seulement 11 (?), dont trois, à son avis, sont doubles (1).

Cette description, à vrai dire un peu étrange, est accompagnée de dessins peu nombreux et peu convaincants. Il semble bien que Stschelkanovzew, travaillant alors au laboratoire de R. Hertwig, a été un peu trop influencé par les vues théoriques des zoologistes de Munich sur la chromatine.

En 1905 et 1906, Miss Stevens a publié des observations sur les Aphides. L'auteur ayant cru observer dans les *deux* sexes *un nombre pair* identique de chromosomes, a été amené à donner pour toute une série de pucerons une description de la spermatogenèse sous beaucoup de rapports tout à fait fausse; elle décrit notamment un nombre *pair* de chromosomes dans les spermatogonies et, en accord avec cela, des chromosomes *tous* également doubles dans les spermatocytes de I ordre et l'*absence de dimorphisme* dans les spermatocytes II et dans les spermatozoïdes.

Outre ses recherches sur la spermatogenèse, Stevens a essayé de donner une description détaillée des processus de maturation dans les œufs parthénogenétiques chez l'*Aphis rosæ*, en attachant spécialement beaucoup d'attention aux chromosomes.

C'est une technique imparfaite et une étude insuffisante des stades importants qui ont conduit l'auteur à ces conclusions erronées. Stevens,

(1) Hewith (1906), dans sa publication sur la parthénogenèse des insectes, compte chez l'*Aphis rosæ* 10 chromosomes, ce qui est d'accord avec les observations de Stevens et les nôtres.

comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, tient toutes les cellules qui se trouvent dans le compartiment final, pour des oocytes. Les oocytes d'après son interprétation et ses dessins, sont ici généralement au stade de repos et possèdent de grands noyaux tout à fait transparents sans aucune trace de chromatine, avec un nucléole rond fort coloré. Quand l'oocyte passe dans la période d'accroissement, il quitte le compartiment final, le nucléole disparaît dans le noyau, et d'emblée les chromosomes définitifs apparaissent. Pendant toute la période d'accroissement, les chromosomes restent comme des éléments compacts et intensément colorés.

L'oocyte dans la chambre ovarique augmente fort de volume, son noyau s'approche de la périphérie et forme un seul fuseau de maturation.

STEVENS souligne que ni dans les œufs qui se développent en femelles ni dans les œufs qui donnent des *mâles* aucune réduction de la chromatine n'a lieu.

Nous avons montré déjà en 1908 que les cellules du compartiment final qui possèdent des noyaux clairs et de grands nucléoles et à partir desquelles Miss STEVENS commence la description de l'ovogenèse en les prenant pour des jeunes oocytes, sont en réalité non des oocytes, mais des *cellules nourricières*, qui naturellement ne passeront jamais dans la chambre ovarique, mais resteront toujours dans l'ovaire fournissant la nourriture aux oocytes et aux œufs en développement. La raison la plus probable, à notre avis, pour laquelle STEVENS, en employant l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN, a pu dans les noyaux de ces cellules vitellines colorer seulement le nucléole, a été une différenciation trop forte.

En 1908, 1909, 1910 ont paru nos trois premières publications sur les pucerons. Notre intention y était surtout de débrouiller le problème de la détermination du sexe. Déjà dans notre premier travail de 1908 nous sommes parvenu à établir, par des figures démonstratives, que, contrairement aux observations de STEVENS, chez l'*Aphis saliceti* les noyaux des individus *mâles* contiennent *un chromosome de moins* que les noyaux des individus femelles (♂ 5, ♀ 6) et qu'en relation avec cela le cours de la première cinèse de maturation dans la spermatogenèse de cette forme se distingue par des caractères très spéciaux et inconnus jusqu'alors. Il s'y produit en effet *deux sortes* de spermatocytes de deuxième ordre : les plus grands qui contiennent trois chromosomes, toutes les mitochondries et beaucoup de protoplasme, et les plus petits, qui ont reçu seulement deux chromosomes, peu de protoplasme et point de mitochondries. Les grands spermatocytes

sont seuls capables d'achever leur développement et de fournir des éléments fonctionnels. Les spermatocytes plus petits ne dépassent pas généralement la prophase de la seconde cinèse, souvent même ils dégénèrent avant ce stade. Ainsi s'explique très clairement ce phénomène que chez les pucerons les œufs fécondés se développent toujours exclusivement en femelles (1).

En ce qui concerne la maturation des œufs parthénogenétiques, nous avons étudié, outre deux espèces d'Aphides : l'*Aphis rosæ* et l'*Aphis saliceti*, trois espèces de Pemphigines : le *Schizoneura lanigera* le *Schizoneura ulmi* et le *Pemphigus piriformis*.

Dans toutes ces cinq espèces, le cours de l'ovogenèse s'est montré semblable. Et il est inutile de résumer notre description, car celle que nous venons de faire pour l'*Aphis palmæ* coïncide essentiellement avec les résultats que nous avons obtenus chez les formes étudiées auparavant, excepté, comme nous l'avons dit, que nous avons pu maintenant pénétrer dans les stades délicats de la toute première période de maturation.

Il faut cependant remarquer que, quoique chez toutes les espèces que nous avons étudiées l'ovogenèse se montre semblable dans ses traits généraux, néanmoins il y a dans les détails certaines différences qui se manifestent surtout quand on compare les Pemphigines et les Aphides.

Chez les Aphides, la période d'accroissement des oocytes dans la chambre ovarique dure plus longtemps que chez les Pemphigines et la structure des chromosomes subit des changements plus radicaux. En même temps que s'accroit le protoplasme de la cellule, le noyau augmente aussi de volume : les chromosomes se gonflent, s'allongent, leur chromatine se disloque.

Chez l'*Aphis rosæ*, ces processus ne vont pas trop loin, et les chromosomes retiennent tout le temps leurs contours, tandis qu'au contraire chez l'*Aphis saliceti*, comme chez l'*Aphis palmæ*, la dislocation chromatique va si loin qu'à la fin on n'aperçoit dans le noyau, outre le grand nucléole, que de faibles traces de la chromatine sous forme de petits granules.

Le retour de chromosomes à leur état normal avec une structure compacte et des contours lisses s'accomplit brusquement et ne devance que d'un peu la formation du fuseau de maturation.

(1) En 1908 Morgan a découvert le dimorphisme des spermatozoïdes chez le *Phylloxera caryæcaulis* et il en a donné une courte note dans le Proc. Soc. f. Exper. Biol. a. Med., vol. 5. Cette note a précédé d'un peu notre publication de la même année sur l'*Aphis saliceti*.

Dans les Pemphigines que nous avons étudiées les chromosomes, pendant toute la période d'accroissement, gardent leur individualité et leur structure se modifie relativement très peu. Chez le *Schizoneura lanigera* et chez le *Schizoneura ulmi*, les chromosomes ne perdent pas leur forme arrondie, ils ne font que se gonfler un peu et devenir moins colorables; chez le *Pemphigus piriformis*, il n'y a même pas de changement de ce genre : les chromosomes restent tout le temps compacts et ne changent ni de forme ni de dimension.

La découverte chez l'*Aphis saliceti* de la différence dans la chromatine chez les deux sexes nous a fait soulever la question du mécanisme par lequel ce dimorphisme de la chromatine se réalise.

Chez l'*Aphis saliceti, une même* femelle sexupare possédant 6 chromosomes donne naissance aux embryons mâles à 5 chromosomes et aux embryons femelles à 6 chromosomes. Ici donc c'est la cellule génitale *femelle* qui seule, sans intervention de l'élément mâle, doit établir les combinaisons chromosomiques nécessaires à chacun des deux sexes (♀ 6, ♂ 5). Il en résulte que les stades décisifs pour trancher cette question doivent être cherchés dans l'ovogenèse des œufs masculinipares.

Malheureusement il est bien difficile de trouver les stades nécessaires chez l'*Aphis saliceti* où, comme nous l'avons constaté, les femelles sexupares mettent au monde toujours plus de femelles que de mâles.

A cause de cela, prévoyant sous ce rapport de grandes difficultés, nous nous sommes borné dans nos travaux de 1908—1910 à une indication théorique concernant les modes par lesquels une réduction si caractéristique du nombre de chromosomes dans les œufs masculinipares paraissait pouvoir se réaliser.

Partant de la théorie, pour nous certaine, de la persistance des chromosomes, nous sommes presque forcé d'admettre que l'œuf masculinipare produit par la femelle sexupare perd son sixième chromosome pendant la maturation en l'expulsant avec le globule polaire.

Les modes les plus probables de cette élimination du chromosome sont, à notre avis, les deux suivants : 1° des six chromosomes, les quatre somatiques (autosomes) et un sexuel (hétérochromosome de l'individu mâle) se divisent équationnellement, le second chromosome sexuel (partenaire de l'hétérochromosome) restant indivis, passe tout entier dans le polocyte d'une manière analogue à ce qui, d'après nos observations, a lieu dans les spermatocytes pour l'hétérochromosome pendant la première cinèse de maturation.

2° Les deux chromosomes sexuels (l'hétérochromosome et son partenaire) se conjuguent et pendant la mitose de maturation prennent dans la plaque équatoriale une position telle, que l'hétérochromosome doit absolument rester dans l'œuf et son partenaire entrer dans le globule polaire, les quatre autosomes, d'autre part, se divisent équationnellement (v. notre mémoire de 1909, p. 316 et aussi notre schéma de 1910, p. 99).

A l'énoncé de ces deux hypothèses nous avons ajouté les considérations suivantes (1909, p. 317) : si les recherches futures sont en état de démontrer que des deux modes que nous venons de dire c'est le premier qui est vrai, nous pouvons y voir une preuve certaine qu'entre ces deux chromosomes il existe quelque différence physiologique et que nous pouvons envisager ces deux chromosomes comme porteurs des facteurs spécifiques qui stimulent le développement de l'organisme dans la direction d'un sexe ou d'un autre. En effet, si on n'admet pas cette diversité spécifique et si on regarde ces chromosomes comme une paire d'éléments tout à fait identiques, on n'arrive pas à comprendre, pourquoi de deux chromosomes complètement identiques l'un se comporte d'une manière et l'autre autrement.

Si c'est le second processus qui est le vrai, nous pouvons encore, comme dans le premier cas, prendre ces chromosomes pour des déterminants sexuels, l'un, mâle, l'autre, femelle.

Mais on peut tout aussi bien les regarder comme une paire de chromosomes homologues et identiques, et pendant la cinèse de maturation il s'agirait simplement d'expulser de l'œuf l'un de ces deux chromosomes jumeaux *n'importe lequel* : l'hétérochromosome des cellules du mâle futur pouvant être aussi bien l'un que l'autre de ces deux chromosomes. Il faudrait alors conclure que les chromosomes en question n'ont aucune tendance sexuelle spéciale et que la *quantité* de chromatine détermine seule le sexe : la présence d'un de ces chromosomes provoquant le développement d'un mâle et la présence de deux chromosomes amenant le sexe femelle.

Ces conjectures théoriques attendent encore un contrôle cytologique. Il est vrai que Miss Stevens, dans sa dernière publication sur les pucerons (1910), est disposée à voir dans l'unique figure de l'*Aphis oenotheræ* qu'elle reproduit un argument suffisant pour prétendre que chez cette forme dans les œufs masculinipares les chromosomes sexuels se conjuguent pendant la prophase de maturation et se séparent à la métaphase de telle façon qu'un d'eux passe dans le globule polaire et l'autre reste dans l'œuf — ce qui correspondrait complètement à notre seconde supposition.

MORGAN (1912), d'autre part, abandonne son interprétation de 1909 et décrit pour le *Phylloxera caryæcaulis* un processus identique à celui de notre première supposition : il conclut, après de nouvelles recherches, que seulement un des deux chromosomes sexuels (auparavant, chez la même forme, il en comptait 4) se divise, l'autre passant indivis dans le polocyte.

Mais il faut reconnaître que les dessins de Miss STEVENS et de MORGAN sont peu convaincants et ne peuvent pas être regardés encore comme de vraies preuves. D'ailleurs, nous avions nous-même en 1908, chez l'*Aphis saliceti*, trouvé un œuf arrivé à la fin de la prophase dans lequel le nombre de chromosomes était de cinq au lieu de six, que nous observions généralement. Mais, ainsi que nous l'avons dit à plusieurs reprises, nous ne nous croyons pas autorisé à tirer d'une seule figure une conclusion définitive, comme le font certains auteurs qui citent nos résultats.

IV. Parthénogenèse et réduction de la chromatine.

Comme on sait « la loi du nombre des globules polaires » établie par WEISMANN et énonçant que « les œufs parthénogenétiques forment *un* globule polaire et les œufs qui exigent la fécondation en forment deux », lui a permis, ainsi qu'à beaucoup d'autres auteurs, de prétendre que c'est seulement pendant la *seconde* cinèse de maturation que la réduction de la chromatine peut avoir lieu.

Les considérations théoriques de WEISMANN sur la nécessité de considérer la seconde mitose de maturation comme une mitose réductionnelle, ont trouvé un appui dans les travaux cytologiques de RÜCKERT (1894), HÆCKER (1895), VOM RATH (1895), MC CLUNG (1900, 1902, 1905), GOLDSCHMIDT (1905), BLACKMAN (1905), ROBERTSON (1908) et autres.

De plus, les études détaillées de l'ovogenèse, dans les formes obligatoirement parthénogenétiques, ont établi que dans la plupart de ces êtres une seule cinèse de maturation se produit et est toujours accompagnée du nombre diploïdique de chromosomes (STEVENS, 1905, BAEHR, 1908, KÜHN, 1908, SCHLEIP, 1909, FRIES, 1909, KRÜGER, 1913). Il en résulterait que ces deux faits (unicité du globule polaire et nombre diploïdique de chromosomes) sont en relation causale : si les œufs parthénogenétiques pendant la maturation ne réduisent pas leur nombre de chromosomes, c'est une conséquence naturelle du fait qu'ils ne réalisent que la *première* mitose de maturation. Au contraire, dans tous les cas normaux de la maturation des œufs, la *seconde* mitose doit être réductionnelle.

Tous ces raisonnements et arguments en faveur de la considération de la II mitose de maturation comme un processus réductionnel ne supportent pas la critique et se butent à des difficultés; et il en est de même de la conception d'après laquelle les œufs parthénogenétiques pendant la maturation doivent se borner seulement à la première division (équationnelle) et retenir le nombre complet (somatique) de chromosomes.

En effet : 1) Les travaux cytologiques les plus récents consacrés à l'étude de la maturation, ont conduit beaucoup d'auteurs à la conclusion que ce n'est pas la seconde, mais la *première* cinèse de maturation qui représente un processus séparant les chromosomes *entiers* (Grégoire, 1904-1910, Schreiner, 1904-1908, Baehr, 1908-1913).

Il faut remarquer que A. et K. E. Schreiner, quoiqu'ils se prononcent tout à fait catégoriquement en faveur de la préréduction chez toutes les formes avec la reproduction bisexuelle typique, admettent cependant pour les œufs parthénogenétiques une postréduction, qui d'ailleurs généralement ne parvient pas à se réaliser, la seconde cinèse étant abortive. « Während das Vorkommen dieser sog. « Postreduktion » bei keinem Objekte mit typischer geschlechtlicher Fortpflanzung als unwiderlegbar bewiesen angesehen werden kann, scheint bei mehreren sich parthenogenetisch entwickelnden Eiern die I Reifungsteilung eine Aequationsteilung zu sein, während die gewöhnlich abortive II Teilung die Reduktion bewirkt » (1906, p. 54).

2) Blochmann encore en 1888 a démontré que chez les abeilles les œufs non fécondés qui se développent en faux-bourdons, de même que les œufs fécondés qui donnent les femelles, subissent *deux* cinèses de maturation et forment deux globules polaires. Ces observations, qui furent ensuite confirmées par Paulcke (1899), Weismann (1900), Petrunkewitsch (1901) et Nachtsheim (1913), se complètent par de très intéressantes observations de Meves (1907) sur la spermatogenèse des faux-bourdons.

D'après Meves, dans les spermatocytes de cette forme, la première division de maturation est supprimée ou plutôt se limite à l'expulsion d'un petit globule protoplasmatique sans que la division du noyau ait lieu. Ce phénomène s'explique par le fait que les faux-bourdons provenant d'un œuf non fécondé, mais qui avait subi deux cinèses de maturation, ne possèdent que le nombre haploïde : aussi pendant la spermatogenèse il n'y a plus lieu à réduction chromosomique. L'élimination d'un globule protoplasmatique a la valeur d'un processus rudimentaire. La seconde division des spermatocytes donne origine à deux sortes de spermatides : des grands et des petits, et ces derniers dégénèrent.

Des phénomènes de ce genre ont été observés chez d'autres Hyménoptères, par MEVES et DUESBERG (1908) chez le *Vespa crabro*, par LAMS (1908) chez le *Camponotus herculaneus* L. (1), par GRANATA (1908) chez le *Xylocopa violacea*, par DONCASTER (1911) chez le *Neuroterus lenticularis*, et avec certaines réserves par ARMBRUSTER (1913) chez l'*Osmia cornuta* (2). — Il faut remarquer que chez le *Vespa*, le *Camponotus* et le *Neuroterus* tous les spermatides sont de même grandeur et capables de fonctionner. Il en résulte que la dégénérescence de la moitié de spermatides qu'on a observée chez l'*Apis*, le *Xylocopa*, l'*Osmia*, doit être interprétée comme un phénomène secondaire.

Avec les données qui concernent les Hyménoptères, individus parthénogenétiques, s'harmonisent les recherches de WHITNEY (1909) sur la maturation des œufs chez l'*Hydatina senta*. Jusqu'à présent WHITNEY n'est pas encore parvenu à compter avec précision le nombre de chromosomes chez ce rotifère, ni non plus à trouver tous les stades de la maturation. Néanmoins, il parait presque établi que parmi les œufs qui ont éliminé deux globules polaires et possèdent un nombre réduit de chromosomes, les uns se développent parthénogenétiquement et donnent des mâles, d'autres sont fécondés et se transforment en œufs d'hiver qui donneront naissance à des femelles. D'autre part, les œufs qui, en se développant parthénogenétiquement, forment des femelles, expulsent, d'accord avec la loi de WEISMANN, un unique polocyte et la réduction des chromosomes n'y a pas lieu.

3) La thèse de WEISMANN, citée plus haut, est contredite par nos recherches sur le *Bacillus rossii*. Dans notre travail publié en 1907, nous avons démontré que, chez ce phasme, pendant de nombreuses générations, les œufs parthénogenétiques subissent *deux* cinèses de maturation et donnent naissance exclusivement à des femelles. L'intérêt spécial de cet objet réside en ce que les chromosomes diacinétiques possèdent, au moment où ils se mettent au fuseau, une constitution de tétrades et que, d'autre part, les globules polaires issus des deux cinèses de maturation sont voués à disparaître. Nos études de 1907 sur le *Bacillus rossii* sont demeurées incomplètes, parce que nous nous y sommes borné à l'étude de la période plus

(1) D'après les observations de SCHLEIP (1908), les processus de la maturation des œufs chez le *Formica sanguinea* montrent que, chez les fourmis, en ce qui concerne la réduction chromatique les relations sont semblables à celles des abeilles.

(2) ARMBRUSTER trouve dans la spermatogenèse aussi seulement une division de maturation, mais il l'interprète comme une division réductionnelle. Les dessins de l'auteur, de même que les considérations théoriques en faveur de sa thèse, ne sont pas convaincants.

avancée de la maturation, mais déjà alors nous voulions reprendre de nouveau l'étude de cet objet, surtout en ce qui concerne les stades du début de l'ovogenèse, ce qui en partie s'est déjà réalisé.

Dans l'appendice de notre travail de 1912, p. 435, nous avons cru déjà pouvoir dire que chez le *Bacillus rossii*, contrairement à ce que HENKING (1892) et PETRUNKEWITSCH (1901) ont admis pour d'autres œufs parthénogenétiques qui subissent deux cinèses de maturation, on trouve le même nombre de chromosomes (20) dans les plaques équatoriales des cinèses de maturation, dans les cellules de segmentation et dans les oogonies. Ce n'est que dans des cellules nourricières ou folliculaires que l'on trouve un nombre différent. A cette information nous sommes maintenant en état d'ajouter que dans les derniers temps nous sommes parvenu à trouver de très beaux stades de noyaux leptotènes et pachytènes précédant le grand accroissement des oocytes. Cela est conforme avec notre découverte précédente sur la présence de chromosomes-tétrades à la fin de la première prophase de maturation; d'autre part, cela soulève certaines difficultés dans l'explication théorique du mécanisme qui dans notre objet doit empêcher la réduction (1).

Nous ne nous arrêterons pas ici à ces difficultés parce que nous espérons finir bientôt notre travail sur le *Bacillus* et le publier sans tarder. Remarquons pourtant que notre première hypothèse, d'après laquelle le nombre de chromosomes, réduit à moitié après deux mitoses, reviendrait au chiffre normal par une autorégulation qui se manifesterait dans une division équationnelle intranucléaire avant la première mitose de segmentation, ne correspond pas à la vérité de la présence de la même quantité de chromosomes dans les oogonies, dans les oocytes et dans les cellules de segmentation.

Il sera utile de rappeler ici quelques observations sur les mouches de galle qui sont également en désaccord avec les thèses de WEISMANN. Chez ces formes, d'après les intéressantes recherches de SCHLEIP (1909) et DONCASTER (1911), qui ne nous paraissent pas cependant tout à

(1) Que la reproduction parthénogenétique du *Bacillus rossii* ne s'accompagne pas d'une réduction du nombre de chromosomes, cela résulte évidemment du fait que nous même avons cultivé des années entières toujours de nombreuses générations successives de femelles parthénogenétiques de ce phasmide sans pouvoir constater quelques changements dans les relations chromatiques ni non plus trouver parmi des centaines d'individus femelles un seul mâle. Ainsi nous n'avons pas ici une parthénogenèse facultative, mais une télytoquie normale Cela est confirmé par les observations dans la nature, car les mâles du *Bacillus rossii* appartiennent aux plus grandes raretés et jusqu'à présent on en a trouvé seulement deux exemplaires (KRAUSS 1897).

fait définitives, — le nombre normal de chromosomes se maintient dans les femelles qui se développent parthénogenétiquement à l'aide de deux procédés différents.

Chez le *Rhodites rosæ* (SCHLEIP) les œufs qui donnent naissance à des femelles, forment deux globules polaires et gardent néanmoins le nombre diploïdique de chromosomes (1); dans le *Neuroterus lenticularis* (DONCASTER), les œufs, au contraire, ne subissent aucune cinèse de maturation. Le noyau pourvu du nombre somatique de chromosomes, monte, il est vrai, à la périphérie de l'œuf, mais bientôt il retourne au centre où il donne origine à la première figure de segmentation.

Ces observations doivent, nous semble-t-il, s'interpréter, de la manière suivante. Dans le premier cas, l'œuf parthénogenétique, par une sorte de persistance héréditaire, emploie le mécanisme achromatique des mitoses de maturation, mais s'en sert pour réaliser deux divisions équationnelles (2). Dans le second cas, les cinèses de maturation, après avoir, comme il parait, perdu toute raison d'être, n'ont plus lieu et il n'existe plus qu'une réminiscence de leur existence d'autrefois dans le fait du déplacement temporaire du noyau vers la périphérie de l'oocyte.

Il faut encore souligner que dans aucun de ces deux cas on ne trouve aux jeunes stades de l'ovogenèse ni noyaux leptotènes, ni noyaux pachytènes, ni contraction synaptique; en un mot tout se passerait plus simplement que dans le *Bacillus rossii*.

Voyons maintenant, si les données recueillies chez l'*Aphis palmæ* ne jettent pas une certaine lumière sur ces observations et ces vues tellement controversées.

Est-ce que vraiment l'existence des figures tout à fait identiques durant les stades initiaux de prophase de maturation dans les œufs parthénogenétiques et dans les œufs qui exigent la fécondation est tellement fatale à nos opinions sur le mécanisme de la réduction?

(1) Une ovogenèse de ce genre a été aussi décrite par DONCASTER (1907) pour les œufs parthénogenétiques femelles chez le *Nematus ribesii*.

Dans sa correction de 1909, DONCASTER lui-même met en doute sa première description et indique les grandes difficultés qui entourent l'étude des chromosomes dans cet objet.

(2) Un cas analogue, où les deux cinèses de maturation fonctionnent comme de simples mitoses équationnelles, se rencontre d'après les recherches de FEDERLEY (1913) pendant la maturation des cellules sexuelles mâles dans la première génération des hybrides entre deux espèces de papillons (*Pygæra curtula* × *Pygæra anachoreta*). Les chromosomes paternels et maternels ne s'y conjuguent pas, mais, en restant univalents à la première comme à la seconde mitose, ils se divisent équationnellement.

Chez l'*Aphis palmæ* dans les oogonies nous trouvons toujours 8 chromosomes. Ceux-ci, pendant la prophase synaptique après le stade leptozygotène, donnent un nombre réduit (4) de chromosomes diacinétiques. Ces derniers doivent donc être regardés comme des éléments *bivalents*, comme de vrais „gemini". Les branches composantes de chacun de ces chromosomes diacinétiques doubles, comme nous l'avons vu, proviennent de deux minces filaments leptotènes étroitement associés et que nous pouvons considérer comme deux chromosomes télophasiques de la dernière cinèse oogoniale modifiés dans leur structure.

D'après nos résultats, dans la spermatogenèse chez l'*Aphis saliceti* les chromosomes doubles diacinétiques se dissocient pendant la I mitose de maturation en leurs composants. Ceux-ci se dirigent vers les pôles opposés du fuseau et forment les noyaux des spermatocytes de II ordre; l'hétérochromosome qui dans les spermatogonies n'avait pas de partenaire et qui apparait ici en forme d'un chromosome simple, ne se divise pas, passe tout entier dans un des spermatocytes de II ordre et devient le lot d'un seul noyau. De semblables relations doivent être aussi admises pour les œufs d'hiver des pucerons qui exigent la fécondation, avec cette différence qu'ici l'hétérochromosome dans les oogonies a son partenaire, en sorte que tous les chromosomes diacinétiques doivent être doubles et se diviser pendant la I mitose.

Pendant la maturation des œufs parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ*, les chromosomes diacinétiques se décomposent d'eux-mêmes en leurs composants et, parce que le fuseau de maturation ne s'y forme pas, les composants restent dans le noyau.

Nous y comptons de nouveau 8 chromosomes simples comme auparavant dans les oogonies. Cette décomposition de quatre chromosomes doubles en huit simples peut être comparée à la première cinèse de maturation dans les cellules sexuelles mâles ou dans les œufs d'hiver où se produit, comme on le sait, une dissociation semblable des chromosomes qui forment les „gemini".

La différence principale consiste seulement en ceci que dans les œufs parthénogenétiques de notre forme il manque un mécanisme pour transporter dans les directions opposées les chromosomes dissociés et accomplir la division du corps protoplasmique de la cellule. Après cet acte de dissociation des chromosomes diacinétiques en leurs composants — phénomène qu'on peut appeler la *déconjugaison* des chromosomes homologues —

l'oocyte doit être, en ce qui concerne son degré de maturation chromatique, considéré comme oocyte de *second* ordre. Il en résulte que la période du grand accroissement des oocytes dans l'ovogenèse parthénogenétique des pucerons a lieu à l'intercinèse et que la seule mitose de maturation qui s'y réalise correspond à la *seconde* division de maturation (1) et pas à la première.

Comme nous voyons, le cours de l'ovogenèse chez les générations parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ* est en complet accord avec nos opinions sur le mécanisme de la réduction, avec les opinions qui acceptent la pseudoréduction par paraconjugaison des chromosomes homologues au stade leptozygotène, la déconjugaison de ces éléments pendant la *première* cinèse de maturation (réductionnelle) et la division en moitiés longitudinales à la seconde cinèse de maturation (équationnelle) des éléments qui sont devenus de nouveau univalents (2). Naturellement il faut a priori s'attendre à ne pas trouver dans toutes les ovogenèses parthénogenétiques les stades caractéristiques de la vraie prophase synaptique.

(1) Dans l'ovogenèse des œufs qui exigent la fécondation, la *seconde* cinèse de maturation représente la dernière étape des processus de maturation.

(2) Comme nous avons déjà souligné à plusieurs reprises dans nos travaux précédents, les arguments les plus décisifs en faveur de la préréduction après la paraconjugaison ont été fournis par nos études de la spermatogenèse de l'*Aphis saliceti*. Dans cette forme les spermatogonies possèdent cinq chromosomes presque de la même taille. Les trois chromosomes qui apparaissent à la première prophase de maturation, au lieu de cinq à la dernière télophase goniale, ne sont pas égaux : quoique tous les trois de la même longueur, deux d'entre eux sont deux fois plus épais que le troisième et montrent un duplicisme très net.

A la métaphase I les deux chromosomes doubles en forme de deux bâtonnets parallèles, égaux entre eux, se divisent en leurs composants, le chromosome simple (l'hétérochromosome) ne se divise pas, mais passe tout entier à un pôle prédestiné. A la fin de l'anaphase I tous les chromosomes montrent une mince fente longitudinale. Dans les spermatocytes de II ordre qui ont reçu l'hétérochromosome, ce dernier ne se distingue plus des autres chromosomes, parce que maintenant tous les trois éléments sont égaux en ce qui concerne leur longueur et leur épaisseur.

Les spermatocytes de II ordre qui ont reçu l'hétérochromosome sont seuls capables de subir la seconde division de maturation. La fente longitudinale qui s'observe dans tous les chromosomes à la prophase II et qui est probablement la même que celle qui avait apparu à l'anaphase de la I division, devient maintenant efficace par la séparation dicentrique des moitiés longitudinales. Cela montre clairement que pour l'*Aphis saliceti* il est impossible d'admettre une métaconjugaison, parce que dans le cas d'un appariement « end to end » de cinq chromosomes égaux il devrait se former deux éléments deux fois plus longs que le troisième qui n'avait pas de partenaire. Mais en réalité rien de pareil ne se vérifie ni à la première prophase, ni à la première métaphase.

Nous devons rejeter tout aussi nettement pour l'*Aphis saliceti* les interprétations de ces adversaires de la théorie de l'individualité des chromosomes qui, identifiant le duplicisme des gemini avec le simple clivage longitudinal des chromosomes somatiques, ne voient pas de différence fondamentale entre une simple prophase somatique et une prophase synaptique de la cinèse réductionnelle de maturation.

Ces stades ayant généralement pour but la réduction de la chromatine, ils ne peuvent dans les œufs parthénogenétiques qui retiennent pendant la maturation le nombre normal (diploïdique) de chromosomes, représenter autre chose qu'une réminiscence phylogenétique, et cela confirme l'opinion acceptée généralement, que la parthénogenèse est une dérivation du mode bisexuel de reproduction.

Étant donnée la grande plasticité des processus cytologiques, on peut s'attendre aussi à voir l'œuf parthénogenétique, pour obtenir un si grand but que le maintien dans son noyau des deux séries d'éléments équivalents, adopter différentes voies.

Il peut peu à peu se dégager de la tradition ou tout de suite « brûler les étapes ». Les oocytes de l'*Aphis palmæ* montrent encore à la prophase de maturation, comme nous l'avons vu, des tendances hétérotypiques bien nettes, et c'est seulement à la diacinèse, par la dissociation des gemini en leurs composants (les chromosomes simples), qu'ils retournent à la mitose somatique.

A en juger d'après les travaux de Kühn (1908) et de Schleip (1909), des relations semblables règnent aussi dans les œufs parthénogenétiques des Cladocères et Ostracodes, quoique les auteurs eux-mêmes, n'ayant pu compter le nombre de chromosomes dans les différents stades de la prophase maturative, arrivent à des conclusions différentes des nôtres et identifient le duplicisme des éléments au commencement de cette prophase avec le clivage des chromosomes définitifs qui sépare réellement les moitiés longitudinales.

Kühn il est vrai mentionne la possibilité pour son objet d'une interprétation analogue à celle que maintenant nous avons établie pour l'*Aphis*

En effet, pourquoi l'un des trois chromosomes dans notre objet ne montrerait-il pas à la première prophase de maturation une fente longitudinale qui présenterait le même aspect que celle des deux autres chromosomes et pourquoi à la métaphase, qui suit, resterait-il indivis au lieu de se diviser, comme le font tous les chromosomes, dans une cinèse somatique?

Nous pouvons ajouter que dans la spermatogenèse de l'*Aphis saliceti*, de même que dans l'ovogenèse de l'*Aphis palmæ*, nous n'avons rien trouvé qui puisse être interprété en faveur du « second contraction » et du repliement métasyndétique dans le sens de Mc Clung et Farmer-Moore.

Une discussion plus détaillée sur le problème de la réduction chromatique se trouve dans notre publication de 1912 (dans le chapitre « Mécanisme de la réduction ») et dans les autres parties de nos « Études sur les chromosomes », qui sont déjà préparées pour l'impression. Le lecteur y trouvera aussi la riche littérature récente de cette question. Ici ayant en vue surtout les relations qui règnent dans la parthénogenèse, nous ne pouvions toucher ces questions très intéressantes qu'en passant.

palmæ, mais il la trouve très peu probable. « Eine andere Möglichkeit bleibe noch : nämlich die, dass tatsächlich eine Syndese der ursprünglichen acht Chromosomen angebahnt, jedoch wieder rückgängig gemacht wird; dann müsste der Längsspalt der Prophasen sich neu an den wieder getrennten Chromosomen bilden. Dieser Gedanke ist jedoch in dem gegebenen Zusammenhang nur eine blosse Möglichkeit ». (Kühn, 1908, p. 576.)

Grégoire (1910, p. 380) faisant la critique des travaux de Kühn et de Schleip, insiste sur les lacunes de leurs observations et admet que rien n'empêche d'admettre pour ces objets qu'il s'y forme des gemini en nombre haploïdique, que ceux-ci persistent jusqu'à la veille de la diacinèse et qu'alors ils se dissocient en leurs éléments, les chromosomes somatiques.

C'est à une autre catégorie marquée par la disparition déjà complète des traditions synaptiques qu'appartiennent les Pemphigines, qui se caractérisent par une très grande fécondité, surtout le *Pemphigus piriformis*, où les processus de l'ovogenèse se déroulent excessivement vite. Malgré nos études très minutieuses nous n'avons pas trouvé même de trace de la prophase synaptique (1). De semblables traits, à savoir des traits somatiques, caractérisent la prophase de maturation des œufs parthénogenétiques de l'*Artemia salina* et du *Rhabditis aberrans*, des êtres qui, quoique occupant des places assez éloignées dans l'échelle philogenétique, néanmoins sont également bien adoptés à la parthénogenèse.

Fries (1909) a étudié comparativement l'ovogenèse des œufs qui exigent la fécondation du *Branchipus Grubei* et celle des œufs parthénogenétique de l'*Artemia salina*. Chez le *Branchipus* il trouve toutes les étapes d'une prophase synaptique (un parallélisme des filaments leptotènes, un stade du bouquet, un pachytène, etc.) et il est prêt à les interpréter en faveur de la paraconjugaison; dans l'ovogenèse parthénogenétique de l'*Artemia*, au contraire, les filaments minces chromatiques du commencement de la prophase de maturation, en se raccourcissant peu à peu et en s'épaississant, se transforment directement en chromosomes définitifs de la mitose maturative et montrent le nombre diploïdique.

D'après une publication récente de Krüger (1913), dans les œufs parthénogenétiques du *Rhabditis aberrans*, qui forment seulement un globule polaire, les chromosomes définitifs se forment directement aux dépens des

(1) Il faut rappeler que spécialement chez cette forme les chromosomes des oocytes, pendant toute la période d'accroissement, ne perdent pas la compacité de leur substance et, sans subir un changement quelconque, forment la plaque équatoriale de la mitose de maturation.

filaments chromatiques; de plus, comme l'auteur le souligne spécialement, pendant toute la période d'accroissement des oocytes jusqu'à la métaphase de maturation, les éléments ne montrent aucun duplicisme (1).

Beaucoup d'auteurs, surtout Boveri (1890), Korschelt et Heider (1903), soulignent les grandes difficultés théoriques qui, à leur avis, s'élèvent dans l'analyse de la parthénogenèse avec une seule mitose de maturation, si on tient compte du fait qu'ici ce n'est pas l'œuf mûr définitif qui commence le développement embryologique, mais une cellule sexuelle de la génération plus jeune — l'oocyte de second ordre.

La description de l'ovogenèse parthénogenétique de l'*Aphis palmæ* et les interprétations que nous y avons données pour les différents stades enlèvent, pensons-nous, cette difficulté.

En effet, la seule cinèse de maturation que nous y trouvons ne correspond pas à la première, comme l'admettent même A. et K. E. Schreiner, mais à la *seconde* cinèse (la dernière étape dans les processus de maturation); la première cinèse (réductionnelle) qui manque ici a son *équivalent* dans la *déconjugaison* des chromosomes du noyau diacinétique.

Nous n'avons pas besoin d'accentuer de quelle importance pour la théorie de l'individualité des chromosomes sont nos résultats sur l'ovogenèse chez l'*Aphis palmæ* et de quelle façon décisive ils s'opposent aux thèses de ces cytologistes qui homologuent le duplicisme des éléments à la prophase I avec le simple clivage des chromosomes somatiques en deux moitiés longitudinales et qui ne veulent pas reconnaitre une différence fondamentale entre les mitoses somatiques et celles de maturation (Fick, Meves, Duesberg, Foot et Strobell, Soós, Kuschakewitsch).

A la fin nous voudrions toucher brièvement une très intéressante question de la maturation chromatique chez les plantes qui se développent apogamiquement; ici aussi à la métaphase nous avons à faire au nombre diploïdique de chromosomes, quoique à la prophase il y ait des préparatifs hétérotypiques. C'est à Strasburger et à ses élèves que nous devons surtout les recherches dans cette direction.

(1) A notre avis, la contraction des éléments chromatiques en un pôle du noyau dans des oocytes très jeunes décrite par Krüger sous le nom de « synapsis » révèle seulement en ce moment une certaine susceptibilité des substances nucléaires envers les réactifs et ne possède pas une plus grande importance. La réduction numérique des chromosomes constatée dans les spermatocytes se réalise d'après la supposition de l'auteur par la conjugaison des chromosomes déjà tout à fait formés, c'est-à-dire à un stade de la maturation plus avancé que celui où elle a lieu chez les autres animaux.

Wikstrœmia indica ne montre même pas de traces d'après lesquelles on pourrait admettre la persistance des tendances synaptiques quelconques (STRASBURGER, 1909).

Un type moins pur sous ce rapport est représenté par les Eualchimelles apogames : l'*Antenaria alpina* ou *Taraxacum*, où au commencement de la prophase se montrent encore des traits hétérotypiques, mais après il s'y déroule une simple cinèse somatique avec le nombre normal de chromosomes (STRASBURGER, 1904).

Chez le *Marsilia Drumondi* enfin nous trouvons une vraie prophase synaptique avec un nombre haploïdique de chromosomes et ce n'est pas avant la diacinèse qu'une dissociation des chromosomes, qui étaient réunis en gemini, s'accomplit.

Au lieu d'une plaque équatoriale réductionnelle avec le nombre haploïdique de gemini qu'on voyait en préparation, une plaque somatique typique se forme avec un nombre diploïdique des chromosomes simples, dont les moitiés longitudinales, comme dans chaque mitose somatique, passent d'une façon ordinaire dans les noyaux-filles (STRASBURGER, 1907).

Un pareil début dans la direction d'une mitose réductionnelle et un retour ultérieur à une mitose somatique caractérisent aussi le *Houttuynia cordata* (SHIBATA et MIYAKE).

Nous voyons ainsi dans l'apogamie des plantes une échelle très nette dans les degrés de la manifestation des réminiscences synaptiques. Les *Marsilia* et *Houttuynia* retiennent le mieux les traditions, et c'est seulement à la diacinèse que nous observons la disjonction des éléments conjugués et le retour au nombre somatique de chromosomes.

Le *Wikstroemia* représente la forme la plus adaptée à l'apogamie ; les chromosomes n'y essayent même pas de se conjuguer. Les Eualchimelles citées plus haut occupent la place intermédiaire entre ces deux types extrêmes.

De pareilles relations s'observent aussi, d'après STRASBURGER, 1910, chez les Urticacées. Dans l'*Elatotesma acuminatum* la cellule-mère du sac embryonnaire montre des caractères synaptiques jusqu'au noyau pachytène.

Après cela, elle retourne au repos et se divise ensuite équationnellement. Au contraire, la prophase dans la cellule-mère de l'*Elatotesma sessile* se caractérise depuis le commencement par les traits somatiques.

MAKOWLANY p. SIDRA, 28 *mai* 1914.

Le mémoire présent est une partie de nos « Études sur les chromosomes », qui était prête pour l'impression au moment où la guerre éclata.

Pendant la guerre tous les dessins et la plupart des préparations ont disparu. Les figures des planches actuelles ont été faites de nouveau d'après quelques préparations seulement heureusement sauvées.

A cause des nouveaux dessins nous avons été obligé de faire quelques changements insignifiants dans le texte.

Les résultats sur l'ovogenèse de l'*Aphis palmae*, que nous publions maintenant en français, ont été déjà publiés en polonais dans les « Annales de la Société des Amis des Sciences à Vilno, 1915—1918 », vol. 6.

Makowlany p. Sidra, 15 *janvier* 1919.

BIBLIOGRAPHIE.

1913 *Armbruster, L.* : Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden (*Osmia cornuta*); Arch. f. Zellforsch., vol. 11.

1907 *von Baehr, W. B.* : Ueber die Zahl der Richtungskörper in parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von *Bacillus rossii*; Zool. Jahrb., Anat. Ontog., vol. 24.

1908 » : Ueber die Bildung der Sexualzellen bei *Aphididæ*; Zool. Anz., vol. 33.

1909 » : Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von *Aphis saliceti*, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse; Arch. f. Zellforsch., vol. 3.

1910 » : Formation des cellules sexuelles et détermination du sexe chez les *Aphididæ* (en russe). St. Pétersbourg.

1912 » : Contribution à l'étude de la caryocinèse somatique, de la pseudoréduction et de la réduction (*Aphis saliceti*); La Cellule, vol. 27.

1913 » Ueber die Bildung der Sexualzellen bei *Saccocirrus major*; Zool. Anz., vol. 43.

1915-1918 » : Ovogenèse dans les générations parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ* (en polonais); Annales de la Société des Amis des Sciences à Vilno, vol. 6.

1905 *Blackman, B. M.* : The Spermatogenesis of *Scolopendra heros* ; Bull. Museum Comp. Zool. Harv. Coll., vol. 48.

1887 *Blochmann, F.* : Ueber die Richtungskörper bei Insecteneiern; Morph. Jahrb., vol. 12.

1888 » : Ueber die Richtungskörper bei unbefruchtet sich entwickelnden Insecteneiern; Verh. naturhist. med. Ver. Heidelberg, vol. 4.

1889 » : Ueber die Zahl der Richtungskörper bei befruchteten und unbefruchteten Bieneneiern; Morph. Jahrb., vol. 15.

1906 *Bonnevie, K.* : Untersuchungen über Keimzellen. I. Beobachtungen an den Keimzellen von *Enteroxenos östergreni;* Jen. Zeitsch., vol. 41.

1908 » : Chromosomenstudien. II. Heterotypische Mitose als Reifungscharakter. Nach Untersuchungen an *Nereis limbata, Thalassema melita* und *Cerebratulus lacteus;* Arch. f. Zellforsch., vol. 2.

1913 » : Ueber die Struktur und Genese der Ascarischromosomen; Arch. f. Zellforsch., vol. 9.

1890 *Boveri, Th.* : Zellenstudien. III. Über das Verhalten der chromatischen Kernsubstanz bei der Bildung der Richtungskörper und bei der Befruchtung. Jena.

1904 » : Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes. Jena.

1907 » : Zellenstudien. VI. Die Entwickelung dispermer Eier. Ein Beitrag zur Befruchtungslehre und zur Theorie des Kernes. Jena.

1909 *Buchner, P.* : Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Oogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion; Arch. f. Zellforsch., vol. 3.

1908 *Davis, H. L.* : Spermatogenesis in *Acrididæ* and *Locustidæ;* Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll., vol. 53.

1907 *Doncaster, L.* : Gametogenesis and Fertilisation in *Nematus ribesii;* Quart. Journ. Micros. Sc., vol. 51.

1909 » : Gametogenesis of the Sawfly *Nematus ribesii;* A Correction; Nature, vol. 82.

1910 1911 » : Gametogenesis of the Gallfly *Neuroterus lenticularis.* I and II; Proc. Roy. Soc., vol. 82, 83.

1908 *Duesberg, J.* : Les divisions des spermatocytes chez le Rat; Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1909 » : Note complémentaire sur la spermatogenèse du Rat; Arch. f. Zellforsch., vol. 3.

1905 *Farmer, J. B., and Moore, J. E* : New Investigations into the Reduction Phenomena of Animals and Plants; Proc. Roy Soc., vol. 72.

1905 » : On the Maiotic Phase (Reduction Division) in Animals and Plants; Quart. Journ. Micr. Sc., vol. 48.

1913 *Federley, H.* : Das Verhalten der Chromosome bei Spermatogenese der Schmetterlinge *Pygæra anachoreta,*

curtula und *pigra* sowie einiger ihrer Bastarde; Zeitsch f. indukt. Abstam. u. Vererbungsl., vol. 9.

1905 *Fick, R.* : Betrachtungen über die Chromosomen, ihre Individualität, Reduktion und Vererbung; Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat., Suppl.

1907 » : Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastard-regeln; Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., vol. 16, 1906.

1912 *Foot, K. and Strobell, E. C.* : A Study of Chromosomes and Chromatin Nukleoli in *Euschistus crassus;* Arch. f. Zellf., vol. 9.

1913 » : Preliminary Note on the Results of Crossing two Hemipterous Species with Reference to the Inheritance of an Exclusively Male Character and its Bearing on Modern Chromosome Theories; Biol. Bull., vol. 24.

1909 *Fries, H.* : Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von *Branchipus Grubei* und der parthenogenetischen Generationen von *Artemia salina*; Arch. f. Zellforsch., vol. 4.

1909 *Gérard, P.* : Recherches sur la spermatogenèse chez *Stenobothrus biguttulus*; Arch. de Biol., vol. 24.

1905 *Goldschmidt, R.* : Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des *Zoogonus mirus*; Zool. Jahrb., 21.

1906 » : Referat Zool. Centralblatt, vol. 13.

1908 » : Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen?; Arch. f Zellforsch., vol. 1.

1909 *Granata, L.* : Le divisioni degli spermatociti di *Xylocopa violacea L.*; Biologica, Torino, vol. 2.

1904 *Grégoire, V.* : La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation; La Cellule, vol. 21.

1905 » : Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes; La Cellule, vol. 22.

1910 » : Les cinèses de maturation dans les deux règnes. L'unité essentielle du processus méiotique; La Cellule, vol. 26.

1895 *Haecker, V.* : Die Vorstadien der Eireifung; Arch. f. mikr. Anat., vol. 45

1895 » : Ueber die Selbständigkeit der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz während der Embryonalentwicklung von *Cyclops;* Arch. f. mikr. Anat., vol. 46.

1910 *Haecker, V.* : Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung; Zeitsch. f. indukt. Abstam. u. Vererbungsl., vol. 3.

1911 » : Allgemeine Vererbungslehre. Braunschweig.

1892 *Henking, H.* : Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in Eiern der Insekten. III. Spezielles und Allgemeines; Zeitsch. f. wiss. Zool., v. 54.

1906 *Hewitt, C. G.* : The Cytological Aspect of Parthenogenesis; Mem. Proc. Manchester Lit. Phil. Soc.

1905 *Janssens, F. A.* : L'évolution des auxocytes mâles du *Batrachoseps attenuatus;* La Cellule, vol. 21.

1913 *von Kemnitz, G. A.* : Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von *Brachycœlium salamandræ*; Arch. f. Zellfor., vol. 10.

1903 *Korschelt, E., und Heider, K.* : Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Allgemeiner Teil. Jena.

1897 *Krauss* : in Jahreshef. Ver. Vaterl. Naturk. Württemberg, Jg. 53.

1913 *Krüger, E.* : Fortpflanzung und Keimzellenbildung von *Rhabditis aberrans;* Zeitsch. f. wissensch. Zool., vol. 105.

1908 *Kühn, A.* : Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationem der Cladoceren; Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1913 *Kuschakewitsch, S.* : Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den *Prosobranchia*; Arch. f. Zellforsch., vol. 10.

1908 *Lams, H.* : Les divisions des Spermatocytes chez la Fourmi (*Camponotus herculaneus L.*); Arch. f. Zellf., vol. 1.

1900 *Mc Clung, C. E.* : The Spermatocyte Divisions of the *Acrididæ*; Kans. Univ. Quart., vol. 9.

1902 » : The Spermatocyte Divisions of the *Locustidæ*; Kans. Univ. Sc. Bull., vol. 1.

1905 » : The Chromosome Complex of Orthopteran Spermatocytes; Biol. Bull., vol. 9.

1907 *Meves, E.* : Die Spermatocytenteilung bei der Honigbiene; Arch. f. mikr. Anat., vol. 72.

1908 » : Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen; Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1911 » : Chromosomenlängen bei *Salamandra* nebst Bemerkungen zur Individualitätstheorie der Chromosomen; Arch. f. mikr. Anat., vol. 77.

1908 *Meves, F., und Duesberg, I.* : Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (*Vespa crabro*); Arch. f. mikr. Anat., vol. 71

1901 *Montgomery, T. H.* : A Study of the Chromosomes of the Germ Cells of *Metazoa*; Trans. Amer. Phil. Soc., vol. 20.

1904 » : Some Observations and Considerations upon the Maturation Phenomena of the Germ Cells; Biol. Bull., vol. 6.

1905 *Montgomery, T. H.* : The Spermatogenesis of *Syrbula* and *Lycosa* with General Considerations upon Chromosom Reduction and the Heterochromosomes; Proc. of Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia, vol. 57.

1911 » : The Spermatogenesis of an Hemipteron, *Euchistus;* Journ. of Morphol., vol. 22.

1907 *Mordwilko, A.* : Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, *Aphididæ Passerini*; Biol. Centralbl.

1908 *Morgan, T. H.* : The Production of two Kinds of Spermatozoa in Phylloxerans. Functional « Female Producing » and Rudimentary Spermatozoa; Proc. Soc. f. Exper. Biol. a. Med., vol. 5.

1909 » : A Biological and Cytological Study of Sex-Determination in Phylloxerans and Aphids; Journ. Exper. Zool., vol. 7.

1912 » : Elimination of Sex-Chromosomes from Male-Producing Eggs of Phylloxerans; Journ. Exper. Zool., 12.

1913 *Nachtsheim, H.* : Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene; Arch. f. Zellf., vol. 11.

1899 *Paulcke, W.* : Zur Frage der parthenogenetischen Entstehung der Drohnen; Anat. Anz., vol. 16.

1901 *Petrunkewitsch, A.* : Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienenei; Zool. Jahrb , Anat. Ontog., vol. 14.

1903 » : Das Schicksal der Richtungskörper im Drohnenei; Zool. Jahrb., Anat. Ontog., vol. 17.

1895 *vom Rath, O.* : Neue Beiträge zur Frage der Chromatinreduktion der Samen- und Eireife; Arch. f. mikr. Anat., vol. 46.

1908 *Robertson, W. R.* : The Chromosome Complex of *Syrbula admirabilis*; Kans. Univ. Sc. Bull , vol. 4.

1894 *Rückert, J.* : Zur Eireifung bei Copepoden; Anat. Hefte, vol. 4.

1894 *Rückert, J.* : Die Chromatinreduktion bei der Reifung der Sexualzellen; Ergebn. der Anatom. und Entw.-Gesch., vol. 3.

1908 *Shibata, K. und Miyake, K.* : Ueber Parthenogenesis bei *Houttuynia cordata*; Botan. Magaz. Tokyo, vol. 22.

1908 *Schleip, W.* : Die Richtungskörperbildung im Ei von *Formica sanguinea*; Zool. Jahrb., Anat., vol. 26.

1909 » : Vergleichende Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden; Arch f. Zellforsch., vol. 2.

1909 » : Die Reifung des Eies von *Rhodites rosæ L.* und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung; Zool. Anz., vol. 35.

1904 *Schreiner, A. und K. E.* : Die Reifungsteilungen bei den Wirbeltieren. Ein Beitrag zur Frage nach der Chromatinreduktion; Anat. Anz., vol. 24.

1906 » : Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von *Tomopteris onisciformis*. II. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra maculosa*, *Spinax niger* und *Myxine glutinosa*; Arch. de Biol., vol. 22.

1908 » : Gibt es eine parallele Konjugation der Chromosomen?; Vidensk. Selsk. Skrifter.

1910 *Soós, L.* : Spermatogenesis of *Helix arbustorum*; Ann. Mus. Hung., vol. 8.

1905 *Stevens. N. M.* : Study of the Germ Cells of *Aphis rosæ* and *Aphis œnotheræ*; Journ. Exper. Zool., vol. 6.

1906 » : Studies in the Germ Cells of Aphids; Carnegie Inst. Washington.

1909 » : An Unpaired Heterochromosome in the Aphids; Journ. Exper. Zool., vol. 6.

1910 » : A Note on the Reduction in the Maturation of Male Eggs in *Aphis*; Biol. Bull., vol. 18.

1904 *Strasburger, E.* : Die Apogamie der Eualchemillen; Jahrb. f. wiss. Bot, vol. 41.

1907 » : Apogamie bei *Marsilia*; Flora, vol. 48.

1909 » : Histologische Beiträge. VIII. Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Jena.

1910 *Strasburger, E.* : Sexuelle und apogame Fortpflanzung bei Urticaceen; Jahrb. f. wiss. Bot , vol. 47.

1904 *Stschelkanovzew, J. P.* : Ueber die Eireifung bei viviparen Aphiden; Biol. Centralbl., vol. 24.

1907 *Tannreuther, G. W.* : History of the Germ Cells and Early Embryology of Certain Aphids; Zool. Jahrb., Anat. Ontog., vol. 24.

1907 *Vejdovsky, F.* : Neue Untersuchungen über Reifung und Befruchtung; König. böhm. Gesellsch. d. Wiss. Prag.

1911-1912 » : Zum Problem der Vererbungsträger; König. böhm. Gesellsch. d. Wiss. Prag.

1909 *Whitney, D. D.* : Observations on the Maturation Stages of the Parthenogenetic and Sexual of *Hydatina senta*; Journ. Exper. Zool., vol. 6.

1887 *Weismann, A.* : Ueber die Zahl der Richtungskörper und ihre Bedeutung für die Vererbung. Jena.

1900 » : Ueber die Parthenogenese der Bienen; Anat. Anz., vol. 18.

1887 *Weismann, A., und Ishikawa, C.* : Ueber die Bildung der Richtungskörper bei tierischen Eiern; SB. naturf. Ges. Freiburg, vol. 3.

1889 » : Weitere Untersuchungen zum Zahlengesetz der Richtungskörper; Zool. Jahrb., vol. 3.

1912 *Wilson, E. B.* : Studies on Chromosomes. VIII. Observations on the Maturation-Phenomena in certain Hemiptera and other Forms with Considerations on Synapsis and Reduction; Journ. Exp. Zool., vol. 13.

1901 *von Winiwarter, H.* : Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme); Arch. de Biol., vol. 17.

1909 *von Winiwarter, H., et Sainmont, G.* : Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire de Mammifères (Chat); Arch. de Biol., vol. 24.

EXPLICATION DES FIGURES.

Toutes les figures ont été dessinées au moyen de l'appareil Abbé. *Fig. 1-3 :* Zeiss *apochr. d. f. 2 mm., ap. num. 1,30 ou 1,40, oc. comp. 6; toutes les autres figures : le même object., oc. comp. 12.*

FIG. **1.** Coupe longitudinale de la chambre terminale parthénogenétique. Fix. liquide de Flemming; col. Hématoxyline ferrique.

FIG. **2.** Coupe longitudinale de la chambre terminale parthénogenétique. En haut les noyaux des cellules nourricières, en bas les noyaux des ovocytes Flem. Hém. ferr.

FIG. **3.** Coupe longitudinale oblique de la chambre terminale parthénogenétique. On voit seulement les oocytes. Flem. Hém. ferr.

FIG. **4-5.** Noyaux des oocytes. Stade lepto-zygotène. Flem. Hém. ferr.

FIG. **6.** Noyau de l'oocyte. Stade diacinétique. Quatre doubles chromosomes (« gemini »). Flem. Hém. ferr.

FIG. **7.** Noyau de l'oocyte. Déconjugaison des chromosomes : deux chromosomes encore doubles, quatre déjà simples. Flem. Hém. ferr.

FIG. **8.** Noyau de l'oocyte dans la chambre terminale avec des chromosomes arrondis en nombre somatique. Flem. Hém. ferr

FIG. **9.** Noyau de l'oocyte dans la chambre terminale. Dans certains chromosomes on voit la fente longitudinale. Flem. Hém. ferr.

FIG. **10.** Oocyte dans la chambre ovarique en accroissement. Flem. Hém. ferr.

FIG. **11.** Oocyte dans la chambre ovarique. Période d'accroissement. Certains chromosomes montrent une fente longitudinale. Flem. Hém. ferr.

FIG. **12.** Oocyte dans la chambre ovarique. Période d'accroissement. Les chromosomes perdent la compacité de leur structure. Subl. ac safr.-vert lum.

FIG. **13.** Oocyte dans la chambre ovarique. Stade plus avancé Flem. Hém. ferr.

FIG. **14** Cellule de segmentation. Plaque équatoriale. Vue polaire. Flem. Hém. ferr.

TABLE DES MATIÈRES.



de Baehr ad nat. phot.

Observations cytologiques sur le cytoplasme d'un Saprolegnia

PAR

A. GUILLIERMOND

(*Mémoire déposé le* 12 *août* 1920.)

Observations cytologiques sur le cytoplasme d'un Saprolegnia

I. Introduction.

Le chondriome des champignons, mis en évidence pour la première fois par nous (1) en 1911 dans les asques de *Pustularia vesiculosa* et retrouvé ensuite par nous (2) (1913 et 14) dans un grand nombre de champignons appartenant à des groupes variés, a été l'objet d'études de RUDOLPH (3) (1912), JANSSENS, VAN DE PUTTE et HELSMORTEL (4) (1913), LEWITSKY (5) (1913), Madame F. MOREAU (6) (1914), F. MOREAU (7) (1914), BEAUVERIE (8) (1914), COWDRY (9) (1918), BESZNOFF (10) (1920).

Ces recherches démontrent l'existence dans tous les champignons d'un chondriome très caractérisé et tout à fait semblable à celui de la cellule animale et des végétaux supérieurs.

Les recherches de cytologie animale tendent à démontrer que les mitochondries sont des organites élaborateurs, aux dépens desquels se forment divers produits du métabolisme cellulaire (grains de zymogène, graisses, pigments), et les recherches sur les végétaux supérieurs, en démontrant que les plastides depuis longtemps connus sont des mitochondries, confirment ce rôle. Nous avons donc cherché si dans les champignons, le chondriome exerce un rôle dans l'élaboration des produits de réserve. Aucun fait précis ne nous a permis de mettre en évidence ce rôle pour le glycogène et les globules graisseux. Par contre, nous avons été amené à admettre que les corpuscules métachromatiques, que nous avons été l'un des premiers à faire connaitre dans les champignons, sont élaborés par les mitochondries. Cette conclusion s'appuyait sur le fait que dans les asques de *Pustularia vesiculosa*, les chondriocontes forment sur leur trajet de petites vésicules tout à fait semblables à celles qui, dans les chondriocontes des racines des Phanérogames, sont déterminées par l'apparition d'un grain d'amidon non colorable

par les méthodes mitochondriales au sein du chondrioconte. La présence très fréquente de ces vésicules semblait donc indiquer que le chondriome jouait un rôle dans l'élaboration des produits de réserve de l'asque. Or, ces vésicules apparaissent toujours dans les périodes qui correspondent aux phases actives de l'élaboration des corpuscules métachromatiques et disparaissent ensuite. Comme les corpuscules métachromatiques ne se colorent pas par les méthodes mitochondriales, l'idée venait donc que les vésicules étaient représentées par de petits corpuscules métachromatiques qui se déposaient sur le chondrioconte, comme cela se produit pour l'amidon dans les végétaux supérieurs. Cette idée semblait se vérifier par le fait que dans les hyphes du pseudoparenchyme du périthèce, nous avons remarqué que quelques corpuscules métachromatiques se colorent périphériquement par les méthodes mitochondriales (Pl. II, FIG. 34, C M C). Ils offrent donc l'aspect de vésicules tout à fait semblables à celles qui sont situées sur le trajet des chondriocontes. A côté de ces corpuscules entourés d'une paroi colorable, la plupart apparaissent absolument incolores et ne se distinguent que par leur réfringence spéciale (C M I). Comme on trouvait une série impressionnante de formes de transition entre les chondriocontes pourvus de vésicules (V M), les corpuscules métachromatiques entourés d'une paroi colorée et les corpuscules absolument incolores, nous avions cru pouvoir conclure que les corpuscules métachromatiques apparaissent au sein des chondriocontes sous forme de vésicules, qui ensuite se détachent pour émigrer dans les vacuoles.

Nos observations ont été vérifiées par BEAUVERIE et F. MOREAU, qui, eux aussi, ont admis l'origine mitochondriale des corpuscules métachromatiques. Enfin, à la même époque, LEWITSKY a décrit la formation par un processus identique des *Gelben Körner* des vacuoles de l'oogone des Péronosporacées.

Cependant, dans une série de recherches plus récentes (1919-1920), M. DANGEARD (11), à la suite d'observations des champignons à l'aide de colorants vitaux, est arrivé à des résultats absolument différents. L'auteur a constaté que les champignons observés sur le frais ne montrent dans leurs vacuoles qu'un très petit nombre de corpuscules métachromatiques et que ce nombre ne correspond pas à la grande quantité de corpuscules que l'on obtient en colorant après fixation le même champignon. Au moyen de colorations vitales, M. DANGEARD a pu démontrer que les corpuscules métachromatiques sont le plus souvent les produits artificiels de la condensation

sous l'influence des colorants vitaux et des fixateurs d'une substance se trouvant normalement à l'état de solution colloïdale dans la vacuole, la métachromatine. L'auteur conclut donc que les corpuscules métachromatiques ne peuvent pas avoir l'origine mitochondriale qui leur est attribuée.

Or, en observant par des colorations vitales l'origine des vacuoles dans les champignons, M. Dangeard a vu qu'elles apparaissent sous forme de très petites vacuoles, remplies de métachromatine, rondes ou allongées, en bâtonnets ou en filaments, c'est-à-dire avec les formes caractéristiques des mitochondries. M. Dangeard a surtout observé l'origine du système vacuolaire dans un *Saprolegnia* trouvé sur des cadavres de mouches. Il a constaté qu'à son origine, ce système vacuolaire présente l'aspect très caractérisé du chondriome et que cet aspect se retrouve sur les préparations fixées et colorées par les méthodes mitochondriales. La métachromatine offre selon lui les mêmes caractères histo-chimiques que les mitochondries. Aussi l'auteur conclut-il sans plus d'informations que ce qui a été décrit dans la cellule animale et dans les champignons sous le nom de chondriome appartient au système vacuolaire rempli de métachromatine et que par conséquent c'est par erreur qu'on a admis dans les végétaux supérieurs que les plastides dérivent des mitochondries. Pour M. Dangeard la métachromatine serait une substance qui se rencontrerait dans les vacuoles de toutes les cellules et jouerait un rôle très important dans la physiologie cellulaire : elle agirait à la fois comme osmotine et électivine.

Nous (12) avons combattu cette théorie dès son origine, la sachant inexacte, et nous avons montré qu'il n'y a aucune relation histo-chimique entre la métachromatine et la substance mitochondriale. Les mitochondries ne se colorent vitalement qu'avec la plus grande difficulté et d'une manière très lente, et seulement au moyen de colorants spéciaux. Au contraire, la métachromatine fixe presque instantanément la plupart des colorants vitaux. Les méthodes mitochondriales ne colorent pas la métachromatine, et les méthodes qui conviennent le mieux à la différenciation des corpuscules métachromatiques détruisent le chondriome. Les jeunes vacuoles ne présentent d'ailleurs pas, dans les champignons que nous avons observés, la forme de mitochondries, et leur évolution n'est nullement superposable à celle du chondriome : elles aboutissent très rapidement à la formation de grosses vacuoles, tandis que le chondriome subsiste dans sa forme primitive pendant toute la vie de la cellule.

Par contre, nos observations ultérieures nous ont permis de vérifier les

observations de M. Dangeard, pour ce qui concerne la métachromatine et de démontrer que les corpuscules métachromatiques résultent le plus souvent d'une condensation, sous l'influence des colorants vitaux et des fixateurs, d'une substance normalement dissoute dans la vacuole.

L'observation vitale du chondriome que nous avons pu réaliser récemment dans l'*Endomyces Magnusii*, nous a permis en outre de constater que la métachromatine se forme directement dans les vacuoles sans le concours des mitochondries, contrairement à ce que nous avions admis à la suite d'observations de coupes fixées et colorées. Nous avons pu réaliser, dans ce champignon, une double coloration vitale du chondriome et du système vacuolaire au moyen du violet de Dahlia et du rouge neutre, qui démontre que le chondriome et le système vacuolaire sont des formations absolument indépendantes et que la métachromatine apparait directement dans les vacuoles à l'état de solution.

En outre, les vacuoles ne présentent pas plus dans ce champignon que dans ceux que nous avions observés antérieurement des formes susceptibles d'être confondues avec les mitochondries. Cependant, dans le *Rhizopus nigricans*, le système vacuolaire à son origine se présente parfois sous forme de canalicules allongés qui s'anastomosent, puis se gonflent et se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles. La présence de vacuoles en forme de canalicules allongés s'explique sans doute par la structure spéciale de ce champignon, dont le thalle est continu et qui est le siège d'une circulation du cytoplasme dans le sens longitudinal des filaments, pouvant déterminer la forme allongée des jeunes vacuoles.

On voit donc que M. Dangeard a confondu le système vacuolaire qu'il a différencié à l'aide de colorants vitaux avec le chondriome qui lui a passé complètement inaperçu. S'il est démontré que les corpuscules métachromatiques ne sont pas, comme nous le pensions, d'origine mitochondriale, l'existence d'un chondriome dans les champignons ne peut être mise en doute et il est actuellement établi que ce chondriome n'a pas de relation avec le système vacuolaire.

L'occasion nous a été donnée d'obtenir sur des cadavres de mouches un *Saprolegnia*, qui parait très voisin, sinon identique, de celui qu'a observé M. Dangeard. Ce champignon a pu être cultivé sur des cadavres de mouches pendant plusieurs mois et n'a jamais donné d'autres formes de reproduction que des zoosporanges. L'absence d'organes sexuels ne nous a donc pas permis de le déterminer d'une manière plus précise. Ce cham-

pignon constitue un des objets les plus favorables que nous connaissions à l'étude vitale du chondriome et a permis de faire des observations vitales beaucoup plus précises que sur l'*Endomyces Magnusii*, dans lequel le chondriome ne se distinguait sur le vivant qu'avec la plus grande difficulté et nécessitait presque toujours pour son étude le concours de la coloration vitale au violet de Dahlia. Étant donné que c'est l'étude de ce champignon qui a servi à M. DANGEARD à appuyer sa théorie de la nature du chondriome, il nous a donc paru intéressant de publier ici nos observations sur ce *Saprolegnia*.

II. Observations vitales.

Si l'on observe sur le vivant à un fort grossissement les filaments de ce champignon, on y distingue d'abord un nombre plus ou moins considérable de petits granules très réfringents qui sont les éléments les plus visibles du cytoplasme (Pl. I, Gg). Ces granules, qui se déplacent très rapidement dans les courants cytoplasmiques et qui brunissent par l'acide osmique, correspondent aux microsomes décrits par M. DANGEARD. La proportion de ces granules varie beaucoup d'un filament à l'autre, selon l'état du développement : on trouve des filaments où ces granules sont très rares, d'autres où ils sont assez nombreux ; dans les extrémités des filaments destinés à se transformer en zoosporanges, dans les zoosporanges eux-mêmes en formation et dans les zoospores, ils sont tellement nombreux et tellement serrés les uns contre les autres qu'ils empêchent de voir les autres éléments du cytoplasme. Ces granules offrent des dimensions variables ; les plus petits ont un diamètre inférieur à celui des éléments du chondriome, les plus gros sont toujours beaucoup plus petits que les noyaux.

Ces éléments nous paraissent être des globules de nature graisseuse semblables à ceux que nous (13) avons observés dans les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe et de la feuille d'*Iris germanica*. Ils semblent constituer une réserve pour les zoospores. Ils n'ont en tout cas aucun rapport avec les éléments décrits sous le nom de mitochondries.

Le système vacuolaire renferme un suc vacuolaire à peu près de la même réfringence que le cytoplasme, de telle sorte qu'il est fort difficile de le distinguer sur le vivant ; c'est à peine si, dans les extrémités en voie de croissance des filaments, on distingue parfois de petites vacuoles que les mouvements d'ensemble du cytoplasme peuvent déplacer. On aperçoit dans

ces vacuoles quelques granulations réfringentes. Les colorations vitales, dont nous parlerons plus loin, permettent d'observer très distinctement le système vacuolaire et les granulations contenues dans son intérieur.

Les noyaux sont le plus souvent visibles : ils se présentent sous la forme de petites vésicules, arrondies ou souvent ellipsoïdes ou fusiformes, à paroi nette, à contenu hyalin avec un assez gros nucléole assez réfringent. (Pl. I, N).

Le chondriome est généralement impossible à déceler dans les extrémités des filaments destinés à se transformer en zoosporanges, dans les zoosporanges en formation et dans les zoospores, parce qu'il se trouve masqué par l'extrême abondance des granulations graisseuses. Partout ailleurs, il peut être observé. Dans les filaments très jeunes et dans les tubes résultant de la gemmation des zoospores, il est cependant moins net qu'ailleurs par suite de la densité du cytoplasme et de l'abondance des granulations graisseuses. Par contre, il apparait avec la plus grande netteté dans les parties un peu plus âgées, dans lesquelles les granulations graisseuses sont moins nombreuses et où le cytoplasme est plus transparent. Le cytoplasme s'y présente sous la forme d'une substance hyaline d'aspect homogène, qui renferme, en outre des granules graisseux et des noyaux, un chondriome presque exclusivement constitué par des chondriocontes de diverses longueurs; les uns apparaissent comme des bâtonnets courts, mais le plus grand nombre affectent la forme de longs filaments très minces, onduleux et orientés le plus souvent dans le sens de la longueur du filament; quelques-uns sont ramifiés (Pl. I, M). Les mitochondries granuleuses sont extrêmement rares; toutefois, dans les extrémités des filaments, les bâtonnets et même les mitochondries granuleuses sont plus nombreux, tandis que les chondriocontes allongés sont rares. Les éléments du chondriome sont toujours très faciles à distinguer des granulations graisseuses par leur réfringence beaucoup moins accusée et par leurs mouvements beaucoup plus lents. Ils s'observent presqu'aussi nettement que le chondriome des cellules épidermiques de *Tulipe* et d'*Iris*, que nous avons observé dans de précédentes recherches et auquel ils ressemblent beaucoup.

Une étude attentive montre que le chondriome peut subir des variations d'aspect, selon les filaments. On trouve des filaments où le chondriome est presque exclusivement constitué par des chondriocontes très minces et très allongés (Pl. I, FIG. **11**, **12**, **13**), et d'autres où il se compose surtout de chondriocontes épais et peu allongés, de bâtonnets courts et trapus et même

de mitochondries granuleuses (Pl. I, FIG. 1). Dans certains filaments, les chondriocontes affectent des formes d'allure cristalline (Pl. I, FIG. 7 et 16) : ils sont plus ou moins fusiformes et ressemblent un peu aux amyloplastides de la racine de *Phajus grandifolius*. Enfin, on rencontre des filaments dans lesquels tous les éléments du chondriome sont transformés en vésicules, de formes rondes et plus ou moins grosses (Pl. I, FIG. 8 et 18 à 24). Beaucoup de ces aspects sont dus à une dégénérescence du chondriome ou à des altérations dues aux conditions du milieu. C'est ainsi que l'on peut constater au cours de l'observation vitale des altérations du chondriome qui aboutissent à des formes semblables. Les conditions de la préparation, la pression exercée sur les filaments par la lamelle, déterminent des altérations du chondriome qui se manifestent d'abord par un gonflement des chondriocontes, puis par leur segmentation en bâtonnets et par la transformation des bâtonnets en vésicules rondes qui peuvent grossir jusqu'à atteindre le volume de noyaux et s'accoler les unes aux autres, déterminant par leur ensemble des structures alvéolaires artificielles du cytoplasme. Ces altérations sont absolument semblables à celles que nous avons constatées dans les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe sous l'influence de milieux hypotoniques et à celles observées par FAURÉ-FRÉMIET (14) et R. et H. LEWIS (15) dans les mitochondries des animaux.

Le réactif iodo-ioduré conserve très bien le chondriome comme dans la Tulipe et l'*Iris* et même le rend plus apparent en donnant à ses éléments une teinte jaune plus marquée que celle que prend le cytoplasme. Ce réactif ne révèle pas de traces de glycogène ; cependant dans les filaments destinés à se transformer en zoosporanges et dans les zoospores, le réactif iodo-ioduré fait apparaître une grande quantité de petits grains qui prennent une coloration d'un brun acajou très marquée. Les zoospores sont remplies de ces petits grains qui pourraient représenter une substance voisine du glycogène. On sait que le glycogène n'apparait pas dans les autres champignons sous cette forme, mais à l'état de granulations de dimensions variables, à contours indécis qui très vite se diffusent dans le cytoplasme sous forme de grosses plages et pénètrent même dans les vacuoles. On sait d'autre part que ERRERA n'a pu obtenir la différenciation du glycogène dans plusieurs espèces de *Saprolegnia*. Il est facile de constater que les granulations brun acajou que révèle le réactif iodo-ioduré sont toujours situées en dehors des éléments du chondriome; elles ne paraissent pas se former dans leur intérieur, mais dans le cytoplasme lui-même.

Le chondriome se conserve également dans une solution d'acide osmique à $\frac{1}{100}$; il ne réduit pas l'acide osmique et seules les granulations graisseuses brunissent. On peut se rendre compte par l'examen de préparations montées dans une solution d'acide osmique que ces granulations ne sont jamais en relation avec les éléments du chondriome et ne naissent pas à leurs dépens. Certaines granulations contenues dans le suc vacuolaire prennent à la longue en présence de l'acide osmique une teinte légèrement grise.

Les essais de colorations vitales du chondriome à l'aide du vert Janus et du violet de Dahlia ont toujours échoué et il ne nous a pas été possible d'obtenir de bonnes colorations vitales du chondriome. On sait au contraire que dans d'autres champignons, le violet de Dahlia nous avait permis de colorer le chondriome. Il semble que nos échecs soient en partie attribuables au fait que le chondriome de notre *Saprolegnia* est extrêmement fragile et que les colorants vitaux qui paraissent avoir sur lui une influence nocive altèrent le chondriome avant de le colorer.

En faisant séjourner le champignon dans de l'eau dans une étuve à 45-50°, pendant un quart d'heure ou une demi-heure, nous avons constaté que tous les éléments du chondriome se transforment en grosses vésicules et en traitant ensuite le champignon ainsi altéré par les méthodes mitochondriales, on n'obtient pas la différenciation du chondriome. Les mitochondries présentent donc à ce point de vue les mêmes caractères que celles des animaux et des végétaux supérieurs et sont détruites par un séjour même court à une température de 45-50° (Policard (16), R. et H. Lewis, Cowdry (17), Guilliermond).

Les colorations vitales au rouge neutre, aux bleus de Nil, de crésyl ou de méthylène nous ont permis de mettre en évidence le système vacuolaire qui fixe presque instantanément ces colorants.

Dans les extrémités des filaments, le système vacuolaire apparait parfois sous forme de petites vacuoles qui se colorent d'une manière diffuse et prennent avec les colorants bleus une teinte d'un violet rougeâtre pas très marquée, comme la métachromatine des autres champignons. Mais le plus souvent, il apparait sous forme de canalicules allongés qui finissent par s'anastomoser et constituer un fin réticulum avec épaississements nodaux (Pl. II, fig. 1 à 4, R V). Dans les parties plus âgées, ce réticulum arrive en se gonflant et par fusion des canalicules qui le constituent à composer une

grande vacuole qui occupe la majeure partie du filament et constitue dans celui-ci une sorte de long canal (Pl. II, FIG. 5, et Pl. I, FIG. 3, C V). Le cytoplasme est alors réduit à une couche pariétale qui s'amincit de plus en plus à mesure que le canal s'élargit. Cette couche pariétale avant de devenir très mince est souvent parcourue par de fins canalicules qui ensuite se fusionnent avec la vacuole centrale. Pendant toute la durée de son développement le système vacuolaire offre une substance à l'état de dissolution qui fixe les colorants vitaux, mais à mesure que les vacuoles grossissent cette substance devenant de plus en plus étendue se colore d'une manière de plus en plus pâle. Lorsque le canal vacuolaire est définitivement constitué, le suc vacuolaire ne se colore plus que d'une manière très faible. C'est dans les régions où le canal vacuolaire a pris son développement définitif que le cytoplasme pariétal très mince laisse observer avec le plus de netteté son chondriome. Le système vacuolaire offre donc dans notre *Saprolegnia* les mêmes formes que nous avons observées dans *Rhizopus nigricans*, ce qui s'explique facilement étant donné qu'il possède aussi un thalle continu. Ce sont les formes canaliculaires initiales de ce système qui ont attiré l'attention de M. DANGEARD, mais ces formes ne rappellent que d'une manière extrêmement vague un chondriome.

Dans le suc vacuolaire, les colorants vitaux permettent de mettre en évidence des granulations qui se colorent d'une manière plus intense que le suc vacuolaire lui-même (Pl. I, FIG. 3 à 7, 9 et 17, et Pl. II, FIG. 5). Ces granulations n'apparaissent ordinairement pas dans les stades tout à fait initiaux du système vacuolaire et sont surtout abondantes dans les filaments jeunes ou d'âge moyen. Elles sont plus rares ou peuvent faire défaut dans les filaments âgés. Les unes sont des grains de dimensions variables, le plus souvent petits, qui se colorent d'une manière intense et très métachromatique; elles ne sont pas visibles sans coloration vitale et semblent résulter d'une altération partielle de la substance dissoute dans la vacuole sous l'influence du colorant. Les autres ont également des dimensions variables, mais atteignent souvent une taille relativement grosse et peuvent dépasser le diamètre des noyaux; ces granulations se voient sans coloration et présentent l'aspect de corpuscules d'une réfringence un peu moindre que celle des globules graisseux : l'acide osmique leur donne une teinte légèrement grise. Ces derniers grains se colorent vitalement d'une manière diffuse et à peine métachromatique. Il est possible que les deux catégories de granulations ne soient que des états différents d'une même substance.

Les granulations qui se colorent intensivement sont très abondantes dans les filaments destinés à se transformer en zoosporanges et dans les zoospores : celles-ci apparaissent criblées de petits grains qui fixent énergiquement les colorants vitaux (Pl. II, FIG. 7). Pendant la germination des zoospores, ces grains se dissolvent dans les vacuoles qui les contiennent : celles-ci se dilatent beaucoup en absorbant de l'eau, puis s'introduisent en s'allongeant sous forme de canalicules dans le tube de germination (Pl. II, FIG. 6). Il est difficile de décider si les vacuoles du tube germinatif dérivent toutes des vacuoles préformées dans la zoospore ou si, ce qui nous semble plus vraisemblable, une partie d'entre elles sont des néoformations. Nos recherches ne nous ont pas permis de résoudre cette question de la persistance des vacuoles.

III. Observations de coupes fixées et colorées.

Il est très facile d'obtenir la différenciation du chondriome par les méthodes mitochondriales (Pl. II, FIG. 8 à 32). On peut colorer directement le mycélium une fois fixé, sans employer la méthode des coupes à la paraffine. Il est facile également d'obtenir des coupes à la paraffine : il suffit d'inclure la mouche infectée toute entière et de la couper. Les deux procédés ont leurs avantages et leurs inconvénients. Le premier permet d'obtenir une vue d'ensemble des filaments, mais donne des images moins nettes du chondriome; le second permet des superbes différenciations du chondriome, mais sur des débris de filaments coupés en tous sens.

La simple fixation au formol commercial suivie de coloration à l'hématoxyline ferrique donne d'excellents résultats. On obtient également de très belles différenciations par les méthodes de REGAUD, de BENDA et de KULL.

Ces méthodes ne colorent pas le suc vacuolaire, ni les granulations intravacuolaires. Les granulations qui se colorent d'une manière diffuse par les colorants vitaux peuvent prendre cependant une teinte grise par l'hématoxyline ferrique et dans quelques cas exceptionnels, on observe également dans les vacuoles de petites granulations colorées en noir par l'hématoxyline. Mais en général, les méthodes mitochondriales ne colorent que les mitochondries et les noyaux et l'interprétation des préparations ne présente aucune difficulté. Les méthodes de BENDA et de KULL permettent en outre la différenciation des granulations graisseuses du cytoplasme qui appa-

raissent brunies par l'acide osmique (Pl. II, FIG 30 et 32). Par toutes ces méthodes, les éléments du chondriome ressortent très distinctement par leur coloration intense dans le cytoplasme à peine coloré. Leur contour est tellement net qu'on éprouve parfois certaines difficultés pour distinguer les chondriocontes de certaines bactéries filamenteuses qui peuvent se trouver accolées à la membrane du champignon.

Le cytoplasme à peine coloré se distingue mal du système vacuolaire incolore. Cependant dans les filaments jeunes, où le cytoplasme est plus dense, les vacuoles apparaissent comme des canalicules incolores séparés par des fibrilles plus ou moins épaisses du cytoplasme, et on observe une structure filamenteuse, qui fait suite, lorsque les canalicules se sont anastomosés, à une structure alvéolaire. Ce sont ces aspects qui ont été décrits et figurés par VON ISTWANFI (18) dans des observations cytologiques déjà anciennes sur les Saprolégniacées. Il est probable que ce sont des aspects semblables du système vacuolaire qui ont été observés par MATRUCHOT (19) dans *Mortierella reticulata* et considérés comme une structure filaire.

Dans certains filaments, le chondriome peut subir certaines variations que nous avons déjà constatées sur le vivant. C'est ainsi que les chondriocontes peuvent se raccourcir, prendre la forme de bâtonnets courts et trapus ou bien se transformer en fuseaux (Pl. II, FIG. 21 à 24). Enfin, dans quelques cas, les éléments du chondriome apparaissent tous sous forme de vésicules plus ou moins grosses (Pl. II, FIG. 25 à 27). Il n'est pas possible de décider si ces formes sont en relation avec le métabolisme cellulaire ou représentent simplement des altérations du chondriome.

Il est fort difficile de mettre en évidence le chondriome dans les zoospores : toutefois il semble que dans les jeunes zoosporanges, les chondriocontes se segmentent, deviennent courts et que c'est sous forme de grains et de courts bâtonnets que se présente le chondriome des zoospores (Pl. II, FIG. 11).

Le chondriome de notre *Saprolegnia* présente une particularité remarquable : c'est sa résistance vis-à-vis des fixateurs renfermant de l'acide acétique ou de l'alcool. C'est ainsi qu'on peut obtenir sa différenciation par l'hématoxyline ferrique après fixation au picroformol de BOUIN ou même au liquide de LENHOSSEK, qui en général détruisent les mitochondries, spécialement celles des autres champignons. Il est vrai que les images obtenues à l'aide de ces méthodes sont beaucoup moins nettes que celles que l'on obtient par les méthodes mitochondriales et témoignent d'une

certaine altération du chondriome. Par contre, l'alcool absolu détruit le chondriome. Par leur résistance aux fixateurs, les mitochondries de *Saprolegnia* sont donc à rapprocher des chloroplastides et des bâtonnets de HEIDENHAIN.

Nous avons essayé de colorer le contenu du système vacuolaire à l'aide des procédés employés pour la différenciation des corpuscules métachromatiques. En colorant le mycélium fixé par l'alcool ou le formol par les bleus de méthylène ou de crésyl, nous n'avons jamais obtenu la coloration même diffuse du système vacuolaire qui apparaît toujours incolore. Par contre, les grains visibles sur le vivant sans coloration prennent avec ces colorants une teinte bleue extrêmement pâle. On peut en outre mettre en évidence les petits grains des zoosporanges et des zoospores qui se coloraient intensivement sur le vivant. Ceux-ci apparaissent fortement colorés en bleu violacé. L'hématéine ne colore pas ces grains et donne aux premiers une teinte bleuâtre pâle.

Lorsqu'on traite une préparation fixée par le formol et colorée par le bleu de méthylène par une solution aqueuse d'acide sulfurique à $\frac{1}{100}$ (réaction I de ARTHUR MEYER), on constate que toutes les granulations des vacuoles se décolorent. On sait au contraire que les corpuscules métachromatiques restent colorés dans les mêmes conditions.

On voit donc qu'aucune de ces granulations n'offrent les réactions caractéristiques de la substance bien définie à laquelle nous avons donné le nom de métachromatine. Ces granulations ne se colorent pas intensivement et métachromatiquement par l'hématéine et n'offrent pas la réaction I de A. MEYER. On peut donc conclure que notre *Saprolegnia* ne parait pas renfermer de métachromatine et que c'est à tort que M. DANGEARD a désigné sous ce nom la substance contenue dans les vacuoles de ce champignon. C'est le seul exemple de champignon que nous connaissions qui soit entièrement dépourvu de corpuscules métachromatiques.

IV. Conclusions.

Le chondriome des Saprolégniacées a déjà été entrevu par certains auteurs. Dès 1904, dans ses recherches sur la métachromatine, ARTHUR MEYER (20) s'exprime ainsi au sujet d'un *Achlya* : « Les gros filaments d'*Achlya* (Pl. II, FIG. 33) renferment un cytoplasme exclusivement situé à

la périphérie, montrant de nombreux noyaux pour la plupart allongés (N), des gouttelettes graisseuses facilement colorables au Sudan (Gg), des éléments plus faiblement réfringents (L), et des corpuscules qui se colorent intensivement par le bleu de méthylène (GB). Les éléments incolores et plus faiblement réfringents sont à peu près de la même dimension et ont une forme variant de l'ellipse à la circonférence. Ce sont, selon moi, des leucoplastes. Dans les jeunes hyphes, ils sont fréquemment allongés en bâtonnets. - A. Meyer montre que les corpuscules colorables par le bleu de méthylène qu'il désigne sous le nom de grains B ne présentent par la réaction I et ne sont par conséquent pas formés de métachromatine. - A côté de ces grains B, dit A. Meyer, j'ai trouvé cependant dans des hyphes un peu âgés et dans les zoospores d'autres grains, qui après coloration par le bleu de méthylène et traitement par une solution d'acide sulfurique à $\frac{1}{100}$ restent colorés et qui pourraient être de la volutine. - Ainsi A. Meyer constate comme nous la présence de plusieurs catégories de granulations colorables par le bleu de méthylène et dont les unes ne sont sûrement pas de la métachromatine et, ce qui est plus intéressant, il décrit la présence de corpuscules qu'il assimile à des leucoplastes.

Plus tard en 1912, Rudolph observe dans un *Achlya* des éléments en forme de filaments, visibles sur le vivant et entremêlés à des granulations graisseuses; les filaments qui se colorent par la méthode de Benda lui paraissent être à rapprocher des mitochondries.

Nous avons vu au contraire que dans une étude plus récente sur un *Saprolegnia* qui paraît le même que le nôtre, M. Dangeard (1916) prétend avoir coloré vitalement et métachromatiquement par le bleu de crésyl le chondriome et admet qu'il représente les formes initiales du système vacuolaire rempli de métachromatine. M. Dangeard décrit dans ce champignon, en dehors des noyaux, 1° de petits granules très réfringents, entraînés d'une manière très rapide par les courants cytoplasmiques, brunissables par l'aide osmique et qui paraissent se transformer en globules graisseux plus gros; l'auteur les désigne sous le nom de microsomes; 2° un système vacuolaire se présentant dans les jeunes filaments sous forme de chondriocontes, de mitochondries granuleuses ou de chondriomites, remplis de métachromatine, qui ensuite se gonflent, s'anastomosent en réseau, puis se transforment et se fusionnent en un gros canal vacuolaire. L'auteur a pu retrouver à l'aide des méthodes mitochondriales les figures

mitochondriales qui donnent naissance aux vacuoles. Aussi conclut-il que ce que l'on a décrit dans la cellule animale et dans les champignons sous le nom de chondriome appartient au système vacuolaire et qu'il ne peut être par conséquent question de rattacher les plastides des végétaux chlorophylliens aux mitochondries. La coloration des vacuoles par les méthodes mitochondriales serait due à la métachromatine qui présente les caractères histo-chimiques attribués aux mitochondries. L'auteur pense également que les microsomes ont été également pour une part décrits comme des mitochondries.

Nos observations vérifient celles de A. Meyer et de Rudolph, mais sont en contradiction formelle avec celles de M. Dangeard, car elles démontrent que le chondriome et le système vacuolaire sont des formations absolument indépendantes et constituent deux systèmes superposés. On a vu en effet que le système vacuolaire se colore vitalement avec la plus grande facilité, tandis que le chondriome ne fixe pas les colorants vitaux. Nos observations montrent en outre que le système vacuolaire ne se colore pas par les méthodes mitochondriales qui donnent de très belles différenciations du chondriome et qu'enfin les formes filamenteuses initiales des vacuoles se transforment très rapidement, dès les filaments les plus jeunes, en vacuoles typiques, tandis que le chondriome persiste avec les mêmes caractères pendant toute la durée de vie des filaments. Quant aux microsomes, ils ne peuvent pas non plus être confondus avec les mitochondries par le fait qu'ils ne se colorent pas par les méthodes mitochondriales.

Il semble cependant d'après la lecture de son mémoire que M. Dangeard a bien vu sur le vivant sans coloration les mitochondries. Voici en effet la description qu'il en donne : « Ces éléments se présentent sous l'aspect de sphères, de bâtonnets ou de longs filaments cylindriques; la substance qui les constitue est d'apparence homogène et le contour en est très net. Si l'on examine, par exemple une extrémité de filament, là où la couche pariétale est épaisse, on voit souvent un grand nombre de sphères réfringentes disposées sur trois ou quatre assises; en s'éloignant progressivement de cette extrémité, on constate que les éléments sphériques sont remplacés par d'autres formations de même nature, mais ayant la forme de bâtonnets ou de longs filaments; parfois tous les éléments en question, même aux extrémités des filaments ont l'aspect de bâtonnets; parfois aussi, surtout lorsque la couche pariétale est mince, la forme filamenteuse domine »; et plus loin : « Nous avons assisté directement à la transformation de la

forme de bâtonnet à la forme sphérique probablement sous l'influence des conditions nouvelles dans lesquelles se trouvait le thalle sous la lamelle ». Cette description ne laisse guère de doutes sur la nature des éléments décrits par M. DANGEARD et correspond à celle que nous venons de faire du chondriome. Il est bien probable également que ce sont des mitochondries que M. DANGEARD a mises en évidence à l'aide des méthodes mitochondriales, puisque le système vacuolaire ne se colore pas avec ces techniques et que seules les mitochondries et les noyaux apparaissent. « Lorsqu'on applique au thalle du *Saprolegnia*, dit M. DANGEARD, les méthodes les plus usitées dans l'étude du chondriome, on arrive à la conviction que les formations que nous venons d'étudier correspondent bien aux mitochondries et chondriocontes des auteurs. »

L'erreur vient d'une mauvaise interprétation des colorations vitales. Voici en effet ce que dit M. DANGEARD à ce sujet : « En employant des traces du réactif (bleu de crésyl), on constate que le cytoplasme resté incolore continue d'être le siège d'une circulation active des microsomes et des globules graisseux, même lorsque ces derniers ont un volume supérieur à celui des mitochondries; par contre le colorant s'accumule rapidement dans le gros canal vacuolaire central et aussi dans les mitochondries et les chondriocontes qui prennent une teinte rouge ou violacée; ces formations renferment donc de la métachromatine dissoute, comme les vacuoles ordinaires petites et grandes des Algues et des champignons; cette métachromatine, dans le suc vacuolaire du canal central, se condense ordinairement en gros corpuscules métachromatiques... ». On voit donc clairement que M. DANGEARD a confondu ici les canalicules vacuolaires des extrémités des jeunes filaments et ceux que l'on rencontre aussi dans la couche pariétale du cytoplasme en dehors du canal vacuolaire dans les filaments relativement jeunes, avec les mitochondries. C'est donc ici qu'est l'erreur. M. DANGEARD dominé par une idée préconçue, idée déjà exprimée par lui dans des études antérieures, que le chondriome correspond aux formes juvéniles du système vacuolaire, a donc vu le chondriome du *Saprolegnia*, sur le vivant sans coloration et à l'aide des méthodes mitochondriales et l'a confondu avec les canalicules du système vacuolaire qu'il a colorés sur le vivant. Ce système vacuolaire ne se voit pas en effet sans coloration, tandis que le chondriome apparaît très distinctement. On peut s'étonner que M. DANGEARD se soit hasardé sans plus d'information dans une théorie aussi risquée, d'autant plus que tous les auteurs qui ont étudié le chon-

driome sont d'accord pour admettre qu'il ne se colore vitalement qu'avec la plus grande difficulté et seulement à l'aide de colorants spéciaux et que le bleu de crésyl ne le colore jamais.

L'étude que nous venons de faire démontre donc avec la plus grande évidence l'existence dans le *Saprolegnia* observé d'un chondriome nettement caractérisé, semblable à celui de la cellule animale et de la cellule des végétaux supérieurs. Ce chondriome présente exactement les mêmes caractères morphologiques, physiques et microchimiques que celui que nous avons pu observer sur le vivant dans les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe et de la feuille d'*Iris germanica*. Il n'en diffère que par une plus grande résistance vis à vis des fixateurs.

Ce chondriome présente un aspect tellement caractérisé que bien avant que les mitochondries ne soient connues, dès 1904, A. Meyer l'avait déjà assimilé aux leucoplastes des végétaux supérieurs.

Ce chondriome est absolument indépendant du système vacuolaire avec lequel il a été confondu par M. Dangeard et qui cependant n'offre que de bien vagues ressemblances avec un chondriome. De même que dans les autres champignons, les colorations par les méthodes mitochondriales ne différencient dans le *Saprolegnia* que le chondriome et rendent impossible toute confusion entre les granulations des vacuoles et les mitochondries et si nous avons pu dans certains champignons admettre l'origine mitochondriale des corpuscules métachromatiques, c'est seulement en raison de l'aspect vésiculeux que prennent les chondriocontes dans les stades correspondant à l'élaboration des corpuscules métachromatiques et du fait que dans quelques cas ces corpuscules peuvent se colorer périphériquement et prendre l'aspect de vésicules qui paraissent s'être détachées des chondriocontes et avoir émigré dans les vacuoles. Mais cette coloration partielle des corpuscules métachromatiques est très rare et ne se rencontre que dans quelques cas seulement et l'on peut affirmer que presque toujours le contenu des vacuoles des champignons (métachromatine ou autres substances) ne se colore pas par les méthodes mitochondriales. M. Dangeard n'est donc nullement autorisé à prétendre comme il l'a fait que nous avons confondu les corpuscules métachromatiques et le système vacuolaire des champignons avec les mitochondries. Si nous avons mal interprété l'origine de la métachromatine, notre interprétation n'atteint nullement les descriptions que nous avons données et les figures que nous avons représentées du chondriome dans nos publications antérieures. Toutes nos recherches

ultérieures ont au contraire montré leur exactitude. C'est M. Dangeard lui-même qui a confondu le système vacuolaire et les corpuscules métachromatiques avec le chondriome. Nous ajouterons pour terminer cette discussion que M. Dangeard décrit de la métachromatine là où il n'y en a pas, puisque le *Saprolegnia* ne renferme pas cette substance dans ses vacuoles.

Quant aux granulations graisseuses (microsomes de M. Dangeard), elles représentent des produits du métabolisme cellulaire qui ne peuvent être confondus avec les mitochondries, puisque les techniques mitochondriales ne les colorent pas.

Par contre, l'observation du *Saprolegnia* ne nous a point permis de constater sa participation à l'élaboration des produits de réserve de la cellule, mais il est possible que le chondriome, en dehors du rôle élaborateur qui lui est attribué dans la cellule animale et qui est démontré dans la cellule des végétaux supérieurs, ait d'autres fonctions qui nous sont encore ignorées. Il est légitime aussi d'admettre que le chondriome peut contribuer d'une manière indirecte à l'élaboration de certains produits du métabolisme cellulaire, en formant des substances intermédiaires qui échappent à nos moyens d'investigations et il n'est pas impossible que les variations très nettes de formes que l'on constate dans le chondriome et notamment l'aspect vésiculeux que prennent les mitochondries dans certains filaments soient précisément en relation avec des phénomènes de cet ordre (1).

(1) Dans l'*Endomyces Magnusii*, nous avons pu démontrer que le glycogène ne se forme pas aux dépens des mitochondries, ce qui parait surprenant étant donné que l'amidon, substance très voisine est sans exception le produit de l'activité des mitochondries. Dans les Floridées, un de nos élèves, M. Mangenot a constaté que l'amylodextrine à l'état de solution, qui remplace l'amidon et qui est incontestablement le produit de la photosynthèse, ne nait jamais dans les rhodoplastes, mais toujours dans le cytoplasme lui-même. Cependant, il est certain dans ce dernier cas que les rhodoplastes exercent un rôle dans la production de cette amylodextrine, puisqu'ils représentent les organes de la photosynthèse (Observations inédites).

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1) *A. Guilliermond* : Sur les mitochondries des cellules végétales; C. R. Ac. des Sciences, 1911.

2) *A. Guilliermond* : Sur les mitochondries des champignons; C. R. Soc. de Biologie de Paris, 15 mars 1913.

» Sur le rôle du chondriome dans l'élaboration des produits de réserve des champignons; C. R. Ac. des Sciences, 1913.

» Nouvelles observations sur le chondriome de l'asque de *Pustularia vesiculosa*. Évolution du chondriome pendant les mitoses et la formation des spores; C. R. Soc. Biologie Paris, 1913.

» Recherches sur le chondriome des champignons et des algues; Revue gén. de Botanique, 1915.

3) *Rudolph* : Chondriosomen und Chromatophoren; Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1912.

4) *Janssens, van de Putte* et *Helsmortel* : Le chondriosome dans les champignons; La Cellule, 15 avril 1913.

5) *Lewitsky* : Die Chondriosomen als Secretbildner bei den Pilzen; Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1913.

6) *Madame P. Moreau* : Le chondriome des Urédinées; C. R. Soc. Biol. Paris, 1914.

7) *P. Moreau* : Sur la formation des corpuscules métachromatiques dans les mitochondries granuleuses; C. R. Soc. Biol. Paris, 1914.

8) *J. Beauverie* : Sur le chondriome d'une Urédinée : le *Puccinia malvacearum*; C. R. Soc. Biol. Paris, 1914.

» Sur le chondriome des Basidiomycètes; C. R. Ac. Sciences, 1914.

9) *N. H. Cowdry* : The cytology of the Myxomycetes with special reference to mitochondria; Biological Bull., 1918.

10) *Besznoff* : C. R Acad. Sciences, 1920.

11) *Dangeard* : Note sur les corpuscules métachromatiques des levures; Bull. Soc. myc. de France, 1916.

» La métachromatine chez les Mucorinées; Bull. Soc. myc. de France, 1916.

» Observations sur le chondriome de *Saprolegnia*, sa nature, son origine et ses propriétés; Bull. Soc. myc. de France, 1916.

» Sur la nature et le rôle du chondriome; C. R. Ac. des Sciences. 1918.

12) *A. Guilliermond* : Sur le chondriome des champignons. A propos des travaux récents de M. Dangeard; C. R. Soc. Biologie Paris, 1918.

» Sur la métachromatine des champignons; C. R. Soc. Biologie, 1920.

» Observations vitales sur le chondriome des champignons; C. R. Soc. Biologie, 1920.

» Sur les relations du chondriome et de la métachromatine; C. R. Soc. Biologie, 1920.

13) *A. Guilliermond* : Observations vitales sur le chondriome des végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens; Rev. Gén. de Botanique, 1919.

14) *Fauré-Frémiet* : Étude sur les mitochondries des protozoaires et des cellules sexuelles; Arch. d'Anat. microsc., 1911.

15) *R. et H. Lewis* : Mitochondria in tissue cultures; The American Journal, 1915.

16) *Policard* : Sensibilité des mitochondries à la chaleur; C. R. Soc. Biologie, 1912.

17) *N. H. Cowdry* : A comparaison of mitochondria in Plant and animals; The Biol. Bull., 1917.

18) *von Istwanfi* : Ueber die Rolle der Zellkerne bei Entwickelung der Pilze; Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895.

19) *Matruchot* : Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée; Rev. Gén. Botanique, 1900.

20) *Arthur Meyer* : Orientirende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins; Bot. Zeitung, 1904.

EXPLICATION DES PLANCHES.

(Toutes les figures ont été dessinées à un grossissement de 1500 et réduits à environ 1275, sauf les fig. 27, 28 et 29 de la planche II.)

PLANCHE I.

FIG. **1.** Filament dessiné sur le vivant. *M*, mitochondrie; *N*, noyaux; *Gg*, globule graisseux. Les éléments du chondriome ont l'aspect de fuseaux.

FIG. **2.** Id. Les chondriocontes sont minces et très allongés.

FIG. **3** à **5**. Filaments colorés vitalement par le bleu de crésyl : la coloration ne porte que sur le canal vacuolaire (V) dont le contenu est faiblement coloré et renferme des corpuscules plus fortement colorés : les uns, C^1, sont plus intensivement colorés que les autres, C^2. Le chondriome est vu au-dessus de la vacuole dans la couche pariétale du cytoplasme et donne l'illusion que ses éléments sont dans l'intérieur de la vacuole.

FIG. **6** et **7**. Filaments in vivo, sans coloration. Les chondriocontes offrent des aspects divers : fuseaux, vésicules. *C*, corpuscules intravacuolaires.

FIG. **8.** Id. Les chondriocontes ont l'aspect de fuseaux dilatés et vésiculeux.

FIG. **9.** Filament coloré vitalement par le bleu de crésyl : le canal vacuolaire est faiblement coloré et renferme de nombreux corpuscules, les uns, C^1, très colorés. les autres moins colorés, C^2. Le chondriome vu dans la couche pariétale au-dessus de la vacuole donne l'illusion d'être situé dans l'intérieur de la vacuole.

FIG. **10** et **11**. Filaments dessinés in vivo, sans coloration; dans la FIG. **10**, les mitochondries ont la forme de fuseaux vésiculeux.

FIG. **12** à **14**. Filaments montés dans une solution d'acide osmique : les globules graisseux sont brunis par l'acide osmique.

FIG. **15** à **28**. Filaments in vivo, montrant un chondriome dont les éléments sont altérés et en voie de se transformer en grosses vésicules.

PLANCHE II.

FIG. **1** et **2**. Filaments jeunes, colorés vitalement par le bleu de crésyl et montrant le système vacuolaire en forme de réseau (RV) coloré d'une manière diffuse. Le chondriome, les noyaux et les globules graisseux n'ont pas été représentés pour ne pas compliquer le dessin.

FIG. **3** et **4**. Id. Les vacuoles ont la forme de canalicules en voie de s'anastomoser.

FIG. **5**. Id. à un stade plus avancé : les vacuoles renferment des corpuscules plus colorés que le suc vacuolaire.

FIG. **6**. Zoospore en voie de germination, montrant son système vacuolaire en forme de réseau.

FIG. **7**. Zoospores à l'état de repos, avec corpuscules colorés par le bleu de crésyl.

FIG. **8** à **10**. Fragments de filaments de coupes fixés et colorés par la méthode de REGAUD.

FIG. **11**. Zoospore (Méthode de REGAUD).

FIG. **12** à **20**. Filaments fixés et colorés par la méthode de REGAUD.

FIG. **21** à **27**. Id. Le chondriome présente des anomalies : ses éléments se dilatent, prennent la forme de bâtonnets courts et trapus, de fuseaux et se transforment en vésicules.

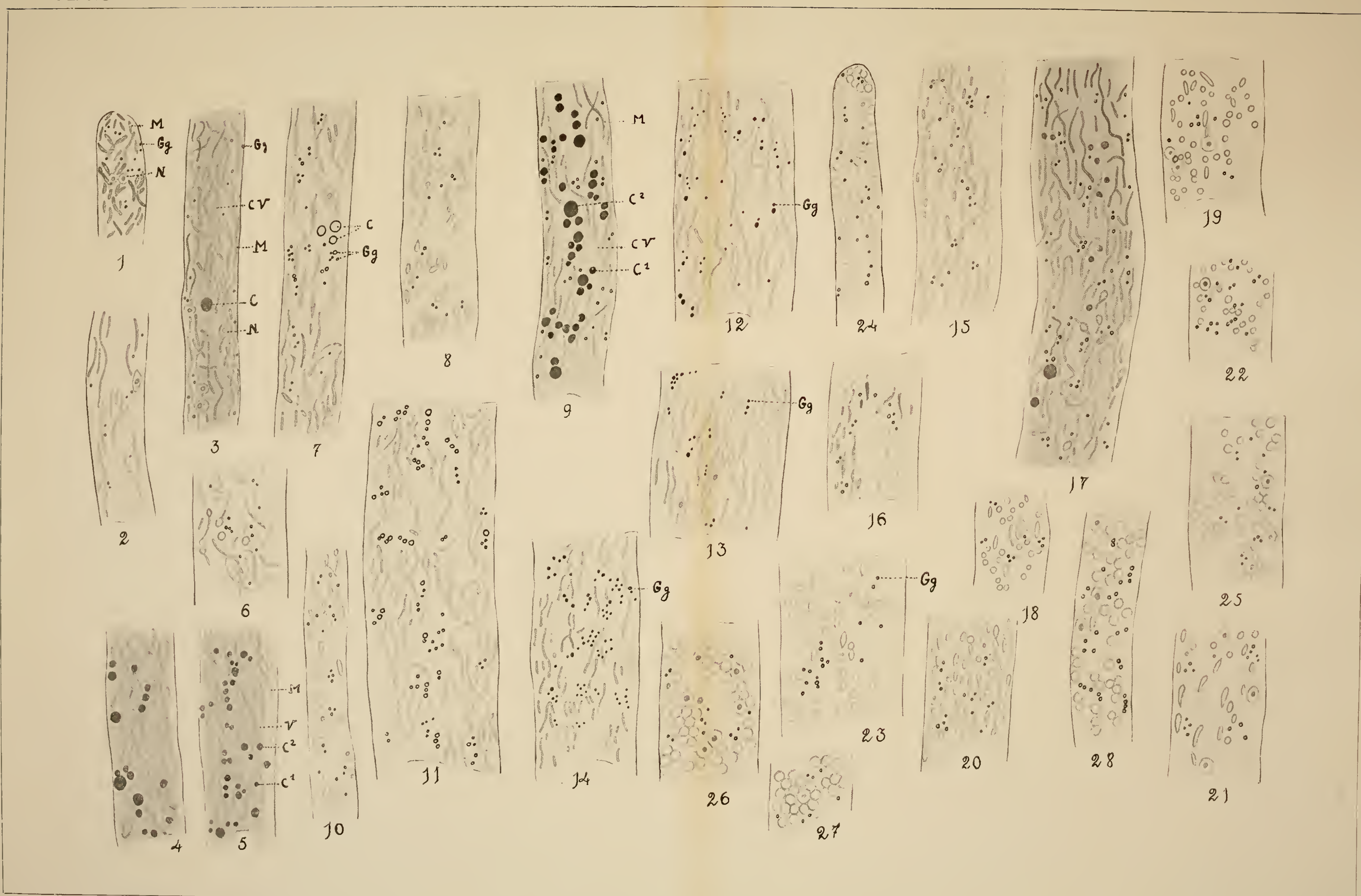
FIG. **28** et **29**. Filaments fixés et colorés par la méthode de REGAUD et dessinés à un grossissement de 3000.

FIG. **30**. Filament fixé par la méthode de BENDA et coloré par l'hématoxyline ferrique : Les globules graisseux, *Gg*, sont brunis par l'acide osmique.

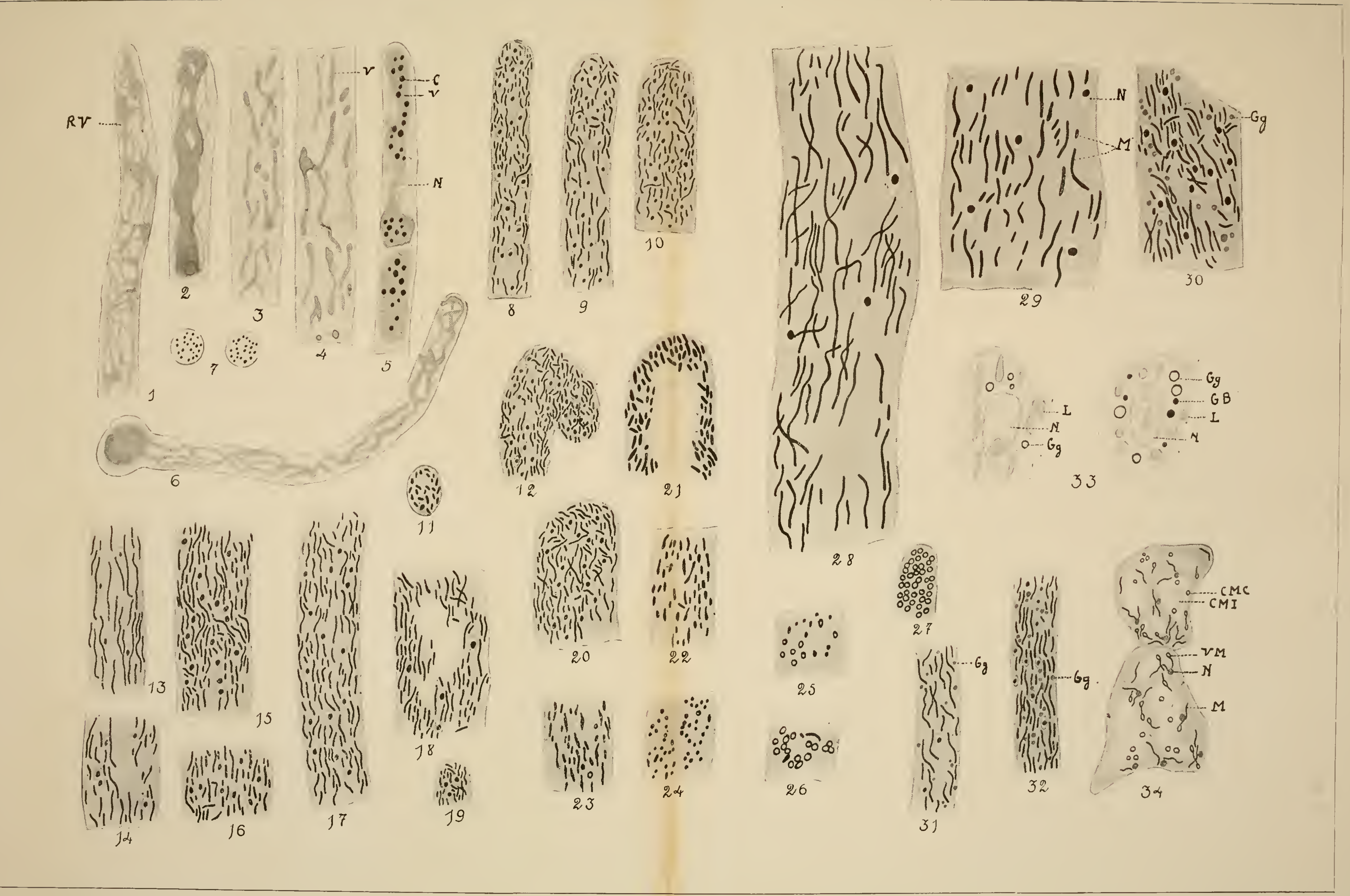
FIG. **31** et **32**. Id. à un grossissement de 1500

FIG. **33**. Fragment du cytoplasme d'un *Achlya* coloré vitalement par le bleu de méthylène, d'après ARTHUR MEYER. L, leucoplaste; Gg, globules graisseux; GB, grains B colorés par le bleu de méthylène; N, noyau.

FIG. **34**. Fragment du pseudoparenchyme du périthèce de *Pustularia vesiculosa* (méthode de REGAUD). N, noyau; M, chondrioconte; VM, chondrioconte pourvu d'une vésicule; CMC, corpuscule métachromatique à écorce colorée par l'hématoxyline; CMI, corpuscule métachromatique non coloré.



A. Guilliermond ad nat. del.



A. Guilliermond ad nat. del.

La Spermatogenèse et l'Ovogenèse

CHEZ LE SACCOCIRRUS MAJOR

SUIVIES D'UNE

discussion générale sur le mécanisme de la réduction chromatique

PAR

le Bon V. B. de BAEHR.

(Mémoire déposé le 10 août 1920.)

La Spermatogenèse et l'Ovogenèse
CHEZ LE SACCOCIRRUS MAJOR
SUIVIES D'UNE
discussion générale sur le mécanisme de la réduction chromatique

Pendant notre séjour, en hiver et au printemps 1912-1913, à la Station Zoologique de Villefranche s. M., nous avons profité de l'occasion pour étendre nos études sur les chromosomes par des recherches spéciales sur les Annélides marines.

Parmi les représentants de ce groupe de vers qui se trouvaient à notre disposition, le *Saccocirrus major* (archiannélide) nous intéressait d'autant plus que, d'après la publication de HEMPELMANN (1912) qui venait de paraître, les relations chromatiques dans cette forme, au cours de la maturation des cellules sexuelles, nous paraissaient très singulières et ne s'accordaient pas facilement avec nos opinions actuelles sur les phénomènes maturatifs.

Nous avons déjà publié l'année dernière (1913), avec les dessins nécessaires à l'appui, tous les résultats essentiels de nos recherches sur la formation, la maturation et la fécondation des cellules sexuelles chez le *Saccocirrus major*. Ici nous voulons donner une description un peu plus détaillée de ces phénomènes, en ajoutant en même temps une discussion générale sur le mécanisme de la réduction chromatique.

Qu'il nous soit permis d'exprimer à cette place encore une fois nos sincères remerciements aux chefs de la Station Zoologique à Villefranche, MM. les Professeurs A. KOROTNEFF et M. DAVIDOFF, et à MM. les Assistants J. SCHNEIDER et H. MIETENS pour leur grande amabilité et la vive attention qu'ils nous ont témoignées en se souciant incessamment de nous procurer en abondance du matériel toujours frais et en veillant à tout ce qui pouvait rendre le travail au laboratoire facile et le plus agréable.

I. TECHNIQUE.

Pour l'étude de la genèse des cellules sexuelles dans le *Saccocirrus major* nous avons employé trois méthodes : celle des coupes, celle des frottis et celle de SCHNEIDER au carmin acétique pour le matériel frais.

Quand il s'agissait de la première méthode, nous débitions le ver en petits morceaux, pour faciliter la pénétration du liquide fixateur dans lequel nous les placions immédiatement. Nous avons employé un très grand nombre de fixateurs, mais surtout les suivants : le liquide de FLEMMING (fort et faible), le liquide de HERMANN, le liquide de HERTWIG et le sublimé acétique. Tous ces fixateurs nous ont donné de bons résultats, et il est bien difficile d'affirmer quel est le meilleur, parce que chacun d'eux présente certains avantages. L'emploi de différents fixateurs nous a permis d'utiliser les diverses méthodes de coloration selon le but que nous visions.

Les objets fixés aux liquides de FLEMMING ou de HERMANN, colorés à l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN ou à la safranine et surcolorés au vert lumière, nous ont montré très fidèlement les structures chromatiques. Nous avons obtenu les mêmes résultats après fixation au liquide de HERTWIG et coloration à la brasiline.

La fixation au liquide de HERTWIG ou au sublimé acétique et la coloration au BIONDI-triacide étaient indispensables pour observer les mitochondries et les » Nebenkerne «.

Pour étudier les nucléoles, la triple coloration d'EHRLICH, après la fixation au sublimé acétique, s'est montrée préférable à toutes les autres matières colorantes.

Les coupes ont été faites de 5 à 10 μ.

Nous nous adressions très souvent à la méthode des frottis, à titre de contrôle. Permettant d'observer les cellules et les noyaux tout entiers, elle nous fournissait des aspects bien clairs, surtout dans la spermatogénèse. Nous avons traité les frottis par les mêmes différents fixateurs que les objets destinés aux coupes et nous utilisions les mêmes colorations.

La méthode de SCHNEIDER au carmin acétique pour le matériel frais nous a rendu de grands services. Grâce à elle, nous sommes parvenu en très peu de temps à établir le nombre diploïdique et haploïdique des chromosomes et à sérier les stades.

Pour les toutes premières phases de l'étape synaptique, où tous les

fixateurs et l'enrobage en général altèrent la substance et brouillent un peu les aspects, cette méthode paraît irremplaçable en conservant tout à fait intacte la structure de minces filaments chromatiques. Il est vrai que le carmin acétique de SCHNEIDER, appliqué sur le matériel frais, augmente un peu les dimensions des cellules et celles des noyaux, mais nous n'avons pas trouvé que cela constitue un inconvénient pour l'analyse microscopique.

La comparaison entre diverses cellules au même stade nous a montré que chez le *Saccocirrus major*, comme chez les autres formes étudiées par nous, les volumes des cellules et ceux des noyaux présentent des différences individuelles qu'accentue encore l'influence plus ou moins considérable des liquides fixateurs.

En employant l'hématoxyline ferrique il ne faudrait pas oublier que les dimensions et les épaisseurs des chromosomes dépendent dans une certaine mesure du degré de différenciation de cette coloration.

Le *Saccocirrus major* nous a offert le meilleur matériel, tant pour nos recherches sur la spermatogenèse que pour l'ovogenèse, à la fin du mois d'avril et pendant le mois de mai.

II. RECHERCHES DE HEMPELMANN SUR LA FORMATION DES CELLULES SEXUELLES CHEZ LE SACCOCIRRUS MAJOR.

Les principaux résultats des recherches de HEMPELMANN sur la formation des cellules sexuelles chez le *Saccocirrus major* peuvent être résumés ainsi.

L'auteur indique le nombre huit comme nombre somatique et décrit dans les spermatocytes et les ovocytes le nombre réduit quatre.

Les spermatogonies, qui flottent librement dans le cœlome du mâle, sont presque toujours groupées par quatre (1). Ce n'est que très rarement que l'auteur a rencontré des groupes formés de deux ou trois cellules goniales.

Les quatre spermatogonies, qui flottent généralement en groupe, grandissent un peu, s'arrondissent petit à petit et entrent alors dans leur dernière

(1) HEMPELMANN n'a pas pu élucider, si des spermatogonies isolées ou des groupes constitués d'un nombre de cellules plus grand que quatre peuvent accidentellement se séparer de la masse générale des cellules testiculaires et tomber dans le cœlome, et il laisse cette question en suspens.

cinèse goniale. Leurs chromosomes montrent une forme de bâtonnets courts et trapus et sont, sans exception, au nombre de huit.

Par la division de ces quatre spermatogonies jointes dans un groupe il se forme un groupe constitué de huit spermatocytes de Ier ordre. Les noyaux cytaires prennent la forme d'une vésicule et passent au stade de repos.

Après le repos, la chromatine se ramasse en *un* spirème qui prend place à un pôle du noyau et forme par ses circonvolutions une « figure de bouquets ».

Le filament spirématique se tronçonne en huit éléments chromatiques, c'est-à-dire en un nombre *normal* somatique et non pas en un nombre réduit de chromosomes.

Ces huit éléments s'unissent ensuite deux à deux, et dans certains d'eux une fente longitudinale se fait remarquer, à cause de quoi ces paires prennent la forme de croix, d'anneau, etc. Enfin dans chaque noyau se forment quatre tétrades chromatiques.

Il faut tout de suite souligner que Hempelmann ne s'arrête pas beaucoup sur la question de savoir de quelle manière se réalise ici la conjugaison des chromosomes, et en faveur de quel mode de réduction chromatique plaident chez le *Saccocirrus* les processus de maturation des cellules sexuelles. Il indique qu'étant données les dimensions très petites de l'objet et d'énormes difficultés dans l'observation des relations chromatiques, il est impossible de suivre toutes les phases de ces processus. En établissant l'ordre successif des étapes méiotiques, il attribue un grand rôle à la détermination du nombre de cellules qui forment les différents groupes cellulaires, à l'estimation des dimensions de ces cellules et de leurs noyaux, et il étudie très minutieusement la façon dont les cellules sont orientées les unes par rapport aux autres.

Nous devons nous-même concéder à Hempelmann que les cellules sexuelles du *Saccocirrus major* sont peu favorables aux études cytologiques détaillées et que, d'autre part, en recherchant comment des spermatogonies dérivent les spermatocytes, et de ces derniers les spermatides, il faut bien tenir compte du nombre et des dimensions des cellules réunies dans tel ou tel groupe. D'un autre côté, nous sommes forcé d'avouer que dans notre cas la sériation réelle des stades nous parait très difficile sans une étude détaillée et approfondie des différentes étapes de l'évolution chromatique, et que même sans cette fine analyse cytologique tout le travail est compromis. En effet, aussi difficile et pénible que cela puisse être, l'intérêt principal doit

être surtout concentré sur l'éclaircissement des changements les plus délicats dans la substance chromatique.

Après cette remarque nous revenons à la description donnée par Hempelmann pour la spermatogenèse.

La Ie cinèse de maturation se passe simultanément dans toutes les huit cellules du même groupe et donne 16 spermatocytes de IIe ordre. Chacune des quatre tétrades chromatiques du noyau se divise en deux dyades, qui prennent part à la construction des noyaux-filles. Les noyaux-filles, avant de subir la IIe cinèse de maturation, entrent en repos en dissolvant peu à peu leurs éléments chromatiques, c'est-à-dire leurs quatre dyades.

A la fin du stade d'intercinèse la chromatine du noyau apparaît de nouveau sous la forme de quatre dyades. Ces dernières, après la disparition de la membrane nucléaire, se mettent à l'équateur du fuseau et par l'acte de la seconde mitose se divisent en leurs composants.

Trente-deux spermatides, résultat de la IIe division, se rangent en deux plaques égales disposées l'une au-dessus de l'autre. Ces plaques se séparent bientôt, et chacune d'elles, formée par 16 spermatides, se transforme en un faisceau de 16 spermatozoïdes. La transformation des spermatides en spermatozoïdes se passe de telle manière que la masse principale de la chromatine se ramasse au pôle postérieur du noyau transparent sous la forme de trois globules qui se touchent au milieu. Derrière le noyau se forme une masse moins colorable que la chromatine, notamment le « Mittelstück », où un filament axial prend son origine. La spermatide s'allonge de plus en plus, le « Mittelstück » s'étend en arrière et devient très mince. Enfin le spermatozoïde possède une tête trapue qui contient aussi le « Mittelstück » et une très longue queue.

En ce qui concerne l'ovogenèse, Hempelmann trouve dans les jeunes oocytes les processus des changements chromatiques tout à fait identiques à ceux de la spermatogenèse (la contraction synaptique, le stade de bouquet).

De même les deux cinèses de maturation dans les œufs se déroulent comme dans la spermatogenèse et confirment les résultats acquis pour les cellules mâles.

Ainsi, à la fin de la période d'accroissement, l'oocyte, qui a atteint sa dimension définitive, commence à se préparer à l'expulsion du polocyte I. Dans son noyau se forment également, comme dans les spermatocytes, quatre tétrades chromosomiques.

La vésicule germinative transparente, enfermant ces quatre tétrades, se dirige vers la périphérie de l'oocyte, et ici bientôt se forme le premier fuseau de maturation.

Les tétrades se divisent en donnant huit dyades dont quatre, accompagnées d'une petite quantité de protoplasme, s'éliminent de l'oocyte dans le Ier globule polaire, les quatre autres restant dans l'oocyte.

Après la I^e^ cinèse suit la IIe, dans laquelle les quatre dyades se divisent : l'œuf reçoit quatre éléments simples, et quatre autres passent dans le polocyte II.

Les observations de Hempelmann sur la pénétration des spermatozoïdes dans les oocytes, et sur le sort des œufs après l'expulsion des globules polaires, seront discutées plus loin dans un autre chapitre.

III. OBSERVATIONS PERSONNELLES.

Disons tout d'abord que nos recherches sur le *Saccocirrus major* nous ont donné sur presque tous les points les plus importants des résultats différents de ceux que Hempelmann a obtenus en étudiant le même objet.

A. Nombre normal de chromosomes.

Le nombre diploïdique de chromosomes chez le *Saccocirrus major* est 18, et non pas 8 comme Hempelmann croit l'avoir établi. De nombreuses numérations dans les différentes générations de cellules nous l'ont démontré sans aucun doute : la fig. **2**, représentant une vue polaire métaphasique spermatogoniale, et la fig. **69**, montrant une vue semblable d'une anaphase de segmentation, l'indiquent clairement.

Les chromosomes du *Saccocirrus major* sont caractérisés par des dimensions différentes, qui permettent de les classer par paires. La comparaison de nombreux noyaux aux différents stades nous permet de conclure que dans notre objet les chromosomes correspondants ne sont pas toujours rapprochés, comme cela a été décrit par certains auteurs pour beaucoup d'objets (Montgomery, 1904, 1906; Stevens, 1908, 1910; Janssens et Willems, 1908; Strasburger, 1905; Clemens-Müller, 1909, 1912; et autres), mais, au contraire, que le groupement de ces chromosomes est très variable.

Dans notre mémoire de 1912, en parlant de l'arrangement des chro-

mosomes chez les Aphididæ, où nous avons trouvé des relations semblables à celles que montre le *Saccocirrus major*, nous avons souligné qu'à notre avis une disposition par paires des chromosomes de même dimension, telle qu'on l'a observée chez différents animaux et chez différentes plantes, ne peut pas être regardée comme un phénomène général, mais que néanmoins, dans le cas où elle est constatée, elle donne un appui à la théorie des chromosomes jumeaux.

Malgré le nombre égal de chromosomes, existe-t-il une différence morphologique quelconque entre la chromatine des deux sexes? Par suite des grandes difficultés qui se présentent chez notre objet pour élucider cette question, nous n'avons pas encore pu en apporter une solution définitive. En tout cas, si une telle différence se manifeste chez le *Saccocirrus major*, elle ne doit pas être très frappante.

B. Spermatogenèse.

1. Cinèses spermatogoniales.

Les cellules spermatogoniales se présentent ou bien immobiles, fixées encore au testicule, ou bien déjà détachées, flottant librement dans le cœlome et groupées en ilots bien distincts.

Contrairement à la description de HEMPELMANN, nous avons pu constater que les îlots spermatogoniaux flottant dans le cœlome montrent des nombres *différents* de cellules (par exemp. 16, 12, 8, 4), et ainsi l'affirmation de l'auteur, à savoir qu'en règle générale la dernière génération spermatogoniale se détache des testicules seulement en groupes de quatre cellules, et que chacun de ces groupes nageant dans la cavité cœlomique donne huit spermatocytes de Ier ordre, ne correspond pas à la vérité.

Les cinèses spermatogoniales ne montrent aucune particularité et se déroulent selon le schéma classique.

Les chromosomes dispersés à la fin de la prophase dans toute la cavité nucléaire, se disposent en un seul plan équatorial et se montrent longitudinalement divisés.

Il en résulte que 18 moitiés longitudinales de part et d'autre de l'équateur se rendent vers les pôles opposés.

La FIG. 1 représente les cellules spermatogoniales dans l'état de repos.

Sur la FIG. 2 nous voyons en vue polaire une métaphase spermatogoniale. Les 18 chromosomes se caractérisent par des dimensions différentes et sont disposés principalement en direction radiale.

La FIG. 3 reproduit le même stade vu de face.

Dans la figure suivante, FIG. 4, est dessinée la télophase spermatogoniale.

2. Cinèses de maturation et spermiogenèse.

Selon nos observations, immédiatement après la dernière division spermatogoniale, les cellules sont presque toujours groupées au nombre de 16. Durant la période d'accroissement, ces groupes de jeunes spermatocytes de Ier ordre se divisent par moitié en formant deux ilots de huit cellules. A la fin de la période d'accroissement, le groupement en rosette se disloque peu à peu. Les spermatocytes, qui ont augmenté considérablement de volume, ne demeurent plus si intimement liés l'un à l'autre. Finalement, à la I^e métaphase de maturation les spermatocytes se trouvent d'ordinaire associés par *quatre*, et non pas par 8, comme le décrit HEMPELMANN. Par la division de ces 4 spermatocytes se forme un groupe sphérique de 8 spermatocytes de IIe ordre disposés selon la direction radiale.

Ces 8 (non pas 16) spermatocytes de IIe ordre subissent la seconde division, qui mène à la formation de 16 spermatides. Groupés en paquet, les 16 spermatides se transforment ensuite en 16 spermatozoïdes. Pour sa formation, le spermatozoïde prend, outre le noyau de la spermatide, une petite quantité de plasma cellulaire. Le reste du corps cellulaire avec les autres formations semblables représente encore pendant un certain temps un amas de 16 cellules vides sans noyau, dont les parois, comme il paraît, donnent la substance aux queues des spermatozoïdes. C'est un tel groupement de cellules que nous avons rencontré le plus fréquemment pendant la spermatogenèse du *Saccocirrus major*, mais d'autres combinaisons sont possibles. Une séparation accidentelle d'une ou plusieurs cellules ou, au contraire, une persistance anormale de l'association entre deux groupes cellulaires, qui d'ordinaire doivent être déjà détachés, peuvent provoquer le groupement d'un nombre plus petit ou plus grand de cellules. Ainsi, par exemple, on trouve de temps en temps non seulement sur les frottis, ce qui pourrait être dû à une cause extérieure, mais encore sur les coupes, un spermatocyte de Ier ordre, en train de se diviser, tout à fait isolé, à une certaine distance des autres qui restent rattachés par deux ou par trois.

D'autre part, on rencontre des spermatocytes qui subissent la cinèse I de maturation en groupes de 8 cellules ou même de plus. L'arrangement le plus commun des spermatocytes I en division, comme nous l'avons déjà dit, consiste en deux ilots de quatre cellules très voisines.

En général nous devons dire que le nombre de cellules qui forment un amas (îlot), n'a pour nous qu'une portée secondaire et ne peut pas être pris comme un critérium de la détermination des stades. Un indice beaucoup plus sûr, pensons-nous, se présente dans les dimensions des cellules.

Si, comme nous l'avons souligné auparavant, nous avons tâché de baser notre sériation principalement sur l'état de la chromatine, néanmoins nous devons ajouter que dans cette tâche la comparaison des dimensions des cellules et de celles des îlots formés par elles, nous a aidé; en effet, dans notre objet, non seulement les différentes générations des cellules, mais encore les phases successives de la période d'accroissement, contrairement aux autres objets, se distinguent nettement par les dimensions différentes des cellules et des noyaux. Il y a naturellement des fluctuations individuelles, mais elles sont insignifiantes, comme nous l'ont montré surtout les préparations totales.

Passons maintenant à l'analyse des changements chromatiques.

a. *Prophase, métaphase et anaphase hétérotypiques.*

Après la dernière cinèse spermatogoniale les chromosomes se disloquent, leurs contours deviennent indistincts et bientôt ils ne sont plus visibles dans le noyau.

Les premiers indices de la formation des éléments chromatiques pour les divisions de maturation, FIG. 5—6, consistent dans la réunion de la substance chromatique en des filaments minces, nettement distincts — le stade *leptotène*.

En étudiant attentivement ce stade, nous voyons que les minces filaments présentent des extrémités libres, de telle sorte qu'il n'y a pas ici formation d'un unique filament spirématique qui, d'après les observations même récentes de GOLDSCHMIDT, MEVES, DUESBERG, KUSCHAKIEWITCH et d'autres, se tronçonnerait ultérieurement en segments isolés. Déterminer le nombre de ces filaments est bien difficile, parce qu'ils sont d'une longueur considérable et présentent de nombreux replis.

Au stade un peu plus avancé, FIG. 7, on voit très bien que les filaments minces orientent leurs extrémités libres vers le pôle intérieur du noyau et butent là contre la membrane nucléaire.

Parmi les filaments de cette figure il y en a qui sont déjà groupés deux à deux. Les partenaires courent parallèlement l'un à côté de l'autre ou bien ils s'entrelacent mutuellement. A leurs extrémités ils sont plus rapprochés qu'aux autres points de leur trajet.

Au fur et à mesure que les spermatocytes s'accroissent, la formation des filaments doubles aux dépens des filaments minces et simples se manifeste de plus en plus nettement : le rapprochement des filaments jumeaux qui les constituent devient plus intime, ils sont plus courts, plus épais et se colorent très intensément.

Finalement il en résulte *neuf* anses chromatiques épaisses qu'il est facile de compter — le stade *pachytène*. Les anses pachytènes, chez notre objet, se caractérisent par des dimensions différentes et sont disposées en une jolie figure de bouquet. Le pôle extérieur du noyau est dépourvu de chromatine, FIG. **8—9**.

Par suite du fait que d'après nos observations le nombre normal de chromosomes chez le *Saccocirrus major* est 18, il est clair que les anses pachytènes apparaissent ici en nombre *réduit*. Selon HEMPELMANN, comme nous l'avons dit, après le stade de bouquet, le spirème continu se coupe en un nombre d'éléments égal à celui qu'il y avait dans les spermatogonies, c'est-à-dire en un nombre *normal*, non réduit, de chromosomes.

Il faut souligner que les anses pachytènes montrent encore maintenant le duplicisme. Ce duplicisme est un peu voilé à cause de l'union de plus en plus intime des partenaires, mais cependant de-ci et de-là on voit des places où ces éléments sont séparés sur une certaine distance, et dans ce cas leur duplicisme ressort très clairement.

Cela prouve que chez le *Saccocirrus major*, comme chez certaines autres formes décrites par les autres auteurs, dans les anses pachytènes, deux filaments chromatiques unis en un élément conservent leur indépendance l'un envers l'autre, et qu'ici il n'y a pas de fusion complète de deux filaments minces en un filament épais — élément nouveau, comme le prétendent BONNEVIE, VEJDOVSKY, WINIWARTER et SAINMONT pour leurs objets. D'autre part, il est fort possible qu'entre les filaments, si étroitement rapprochés, se produise un échange de substances ou qu'il existe du moins une certaine influence réciproque.

Nous analyserons cette question plus en détail dans la partie générale de ce mémoire.

Après le stade de bouquet, les anses pachytènes perdent leur orientation polaire, se détachent de la membrane nucléaire et se dispersent dans tout le noyau. Elles sont maintenant moins courbées et bientôt commencent à s'étirer, en s'amincissant de plus en plus; leurs contours deviennent confus et finalement point analysables, FIG. **10—12**. Ce stade, si caracté-

ristique par le métabolisme intensif de la chromatine, ne dure pas longtemps chez le *Saccocirrus major;* il n'a pas une grande importance, cela ressort déjà du fait que, dans le cours du développement des cellules sexuelles mâles de beaucoup d'objets, on ne l'observe pas ou bien il se manifeste tres faiblement (1).

La présence d'un tel stade, contrairement à ce que prétend Soós (1910, p. 328), ne peut, à notre avis, servir d'argument contre la continuité des chromosomes, de même que l'absence dans certains objets d'éléments chromatiques reconnaissables à l'intercinèse méiotique.

Après ce stade du métabolisme intensif, la chromatine commence de nouveau à se condenser et peu à peu il se forme des éléments chromatiques bien distincts. Ces éléments apparaissent appariés présentant maintenant un aspect de filaments minces, longs, peu colorés et entrelacés. En certains points les partenaires d'une paire se rapprochent étroitement, dans d'autres ils se séparent largement — en général, les éléments d'un couple donné ne sont pas intimement rapprochés, FIG. **13-14.**

Ce stade nous offre les aspects qui caractérisent le stade strepsitène. Il nous paraît tout à fait juste d'estimer ces doubles éléments comme tout à fait identiques avec les anses pachytènes qui, comme nous l'avons vu, sont formées aussi de deux filaments chromatiques.

La condensation avancée de la chromatine, le raccourcissement progressif des filaments entrelacés et l'apparition dans ces derniers d'une fente longitudinale conduisent peu à peu à la formation des figures diacinétiques typiques en forme d'anneaux, de croix, de tétrades-bâtonnets, etc., FIG. **15-17.**

.En colorant le matériel frais avec le carmin acétique de A. SCHNEIDER, nous avons observé souvent que les deux parties constitutives des différentes figures diacinétiques peuvent se séparer l'une de l'autre à une distance assez considérable et ainsi donner l'impression, à un examen superficiel, d'un nombre plus grand d'éléments qu'il n'y en a en réalité. Sur la FIG. **16**, nous voyons cette particularité dans le grand anneau.

Les éléments diacinétiques se raccourcissant davantage se transforment bientôt en chromosomes définitifs de la première cinèse de maturation.

(1) Ce stade du métabolisme intensif à la prophase hétérotypique dans les cellules mâles n'a été jusqu'à présent constaté d'une façon certaine, outre dans les cellules du *Saccocirrus major* et de l'*Aphis saliceti* étudiés par nous, que dans la spermatogenese du *Notodromus monacha* (Ostracoda), par SCHLEIP (1909) et par SCHMALZ (1912), du *Helix arbustorum*, par Soós (1910), du *Helix pomatia*, par DEMOLL (1912), de l'*Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera heteroptera), par WILSON (1912).

Ces derniers, après la dissolution de la membrane nucléaire, se rangent dans un plan et forment la plaque équatoriale, FIG. **18-24**.

Il est très important que certains éléments chromatiques gardent encore maintenant leur ancienne forme d'anneaux ou de croix, et ainsi nous permettent de voir que pendant l'anaphase première se réalise la séparation des parties composantes du chromosome diacinétique, qui sont provenues, aux stades antérieurs de la prophase, des filaments chromatiques indépendants. Les composants qui se séparent manifestent parfois très nettement un clivage longitudinal dont nous avons déjà constaté l'apparition dans les chromosomes diacinétiques.

D'après la description de HEMPELMANN, par un tronçonnement du spirème chromatique continu en segments, dont le nombre correspond au nombre somatique, il se forme 8 chromosomes qui, après s'être appariés seulement à la fin de la prophase et après clivage longitudinal, donnent origine à 4 tétrades de la I[e] cinèse de maturation.

Comme nous venons de voir, chez le *Saccocirrus major*, rien de pareil ne s'accomplit et en général, à notre avis, jusqu'à présent on n'a pas encore trouvé un objet, chez lequel on pourrait avec toute certitude constater une conjugaison si tardive des autosomes. Il est vrai que, sans mentionner beaucoup d'observations anciennes (HENKING, 1891, KORSCHELT, 1895), on a décrit encore dans ces derniers temps de pareils cas; notamment, selon les observations de STEVENS (1905, 1906) et de TANNREUTHER (1907), chez les Aphides, les chromosomes tout à fait développés et mûrs en nombre diploïdique s'apparient seulement à la fin de la diacinèse. — DEHORNE (1910, 1911) a observé une pareille pseudoréduction tardive justement chez les polychètes : les *Sabellaria spinulosa* et *Lanice conchylega* (1).

En ce qui concerne les recherches de STEVENS et celles de TANNREUTHER, nous avons démontré déjà en 1908 que les auteurs en question avaient non seulement déterminé faussement le nombre des chromosomes dans les cellules mâles de leurs objets, mais aussi qu'ils n'avaient pas remarqué les stades les plus importants de la prophase.

Les données de DEHORNE ont été analysées par nous en détail dans

(1) Il faudrait peut-être rappeler que la description d'AGAR (1911) d'une conjugaison des chromosomes mûrs au moment de la formation du fuseau I, dans la spermatogenèse du *Lepidosiren paradoxa*, n'appartient pas à cette catégorie. C'est un phénomène *secondaire*, une reconjugaison, qui s'accomplit après la dissolution de la membrane nucléaire et qui est précédé d'une conjugaison parallèle des éléments homologues au stade leptotène et d'une déconjugaison de ces éléments à la diacinèse.

notre travail sur l'*Aphis saliceti* de 1912 et nous y avons été forcé de rejeter toutes ces thèses.

b. *Intercinèse, Prophase II, Métaphase II et Anaphase II.*

D'après nos observations chez le *Saccocirrus major*, la I[e] cinèse de maturation n'est pas suivie d'un vrai stade de repos. Pendant l'intercinèse il se forme autour des chromosomes une vacuole nucléaire, les chromosomes ne s'y disloquent guère, mais restent compacts, FIG. **25**, et bientôt la seconde division de maturation commence, FIG. **26-28**. Cette cinèse est très simple. Les chromosomes se divisent en moitiés suivant la fente longitudinale qui déjà au stade de la diacinèse se voyait dans les composants de certains éléments doubles.

Dans le noyau clair de la spermatide, on peut observer encore un certain temps 9 chromosomes simples. Après, ces derniers se dissolvent peu à peu, et le noyau de la spermatide, diminue de plus en plus de volume, FIG. **29**.

c. *Spermiogenèse.*

En ce qui concerne la transformation de la spermatide en spermatozoïde, il est évident que les trois corps sphériques, que HEMPELMANN prend pour la masse principale de la chromatine nucléaire et qu'il dessine dans l'intérieur du noyau, *n'ont rien de commun avec la chromatine*, mais, d'après nos recherches, représentent la substance mitochondriale et se trouvent à l'*intérieur* du noyau. Le triacide-BIONDI colore ces corps en rouge foncé, tandis que la chromatine par cette méthode devient intensivement verte, FIG. **30-31**.

Nous avons observé dans la plupart des préparations la structure de ces corps : ils sont d'ordinaire ronds et homogènes, mais parfois paraissent en forme de vésicules dont les épaisses parois consistent en une substance très colorable.

On rencontre souvent une semblable structure dans les formations appelées « Nebenkerne » des autres animaux, avec lesquels nos formations paraissent tout à fait identiques; elles s'en distinguent seulement en ce que dans le « Nebenkern » ordinaire les mitochondries se concentrent en un, plus rarement en deux corps tandis que dans notre objet elles se condensent en trois. — Les corps mitochondriaux ne prennent aucune part à la formation de la tête du spermatozoïde, mais ils s'étendent et s'allongent en couvrant sur une certaine distance le filament axial, FIG. **32-34**. Après, leur

substance mitochondriale se décompose peu à peu en petits granules et disparaît, FIG. 35-36. Outre ces trois corps mitochondriaux relativement assez grands, il y a dans les spermatides encore trois petites formations rondes qui se trouvent aussi en dehors du noyau, mais près de sa membrane, dans les intervalles entre les bords extérieurs des grands corps, comme le montre clairement la FIG. 31, qui représente la vue d'en haut sur le pôle intérieur du noyau. La FIG. 30 représente une semblable spermatide de profil. On voit ici seulement deux grands corps (mitochondriaux) et un petit.

Sur la nature de la substance qui compose ces petits corpuscules, il est bien difficile de dire quelque chose de définitif. L'hématoxyline ferrique HEIDENHAIN les colore naturellement, comme les grands, en noir, mais par le procédé spécial du triacide-BIONDI nous avons pu obtenir une coloration différente pour ces deux catégories de formations et montrer que la substance des petits corpuscules est peut-être voisine de celle des nucléoles.

Après avoir suivi pas à pas la formation des cellules sexuelles mâles, en commençant par les spermatogonies et en finissant par les spermatozoïdes, nous croyons intéressant de revenir sur les dessins de HEMPELMANN : nous tâcherons, en les interprétant dans le sens de nos propres observations, de déterminer quelle place ils doivent occuper dans notre sériation des stades. Malheureusement nous ne trouvons dans le mémoire de HEMPELMANN dans l'explication des planches aucun indice sur les grossissements avec lesquels les différents dessins ont été faits et cela rend plus difficile notre tâche. Néanmoins nous sommes presque tout à fait sûr que par exemple sa fig. 22. qui doit représenter la division de la dernière génération spermatogoniale, est déjà en vérité la première métaphase de maturation. Il faut souligner ici encore de très fausses données, à notre avis, qui se trouvent chez HEMPELMANN dans le texte. Il prétend notamment que les dimensions de ces cellules (à peine 10 μ) ne diffèrent que très peu de celles des spermatogonies attachées encore aux testicules (6-8 μ). D'après nos observations et nos mensurations, la différence des volumes entre les spermatocytes mûrs de Ier ordre et les spermatogonies est énorme. C'est ce que montre très bien la comparaison de nos FIG. 16 et FIG. 1.

Puis, en ce qui concerne par exemple les dessins 36 et 37 du mémoire de HEMPELMANN, qui doivent représenter les paquets des spermatides, nous pensons que l'un d'eux, fig. 37, représente des spermatogonies ou des sper-

matocytes I encore très jeunes au commencement de la période d'accroissement, et l'autre un stade un peu plus avancé de la même période.

La fig. 32 de HEMPELMANN, dans laquelle l'auteur n'a pu compter que quatre tétrades, nous permet, malgré les indices évidents d'une mauvaise fixation et d'une certaine agglutination des chromosomes, de distinguer plus de quatre éléments composés.

C. Ovogenèse.

Les processus de la maturation chromatique des cellules sexuelles femelles du *Saccocirrus major*, si nous mettons de côté le grand accroissement des oocytes, se déroulent conformément à nos observations sur la spermatogenèse.

1. Cinèses oogoniales.

Les cellules oogoniales en état de repos ou en division ressemblent beaucoup aux spermatogonies et, comme ces dernières, ne se caractérisent par rien de particulier. A l'approche de la division, la membrane nucléaire se dissout et les chromosomes, au nombre de 18, dispersés auparavant sans ordre dans le noyau, se rangent maintenant à l'équateur du fuseau dans un plan et se montrent longitudinalement clivés. Lors de la division, les moitiés longitudinales se séparent et se rendent aux pôles opposés.

Les oogonies subissent leurs divisions en groupes, de telle sorte qu'on trouve dans la même coupe plusieurs figures caryocinétiques plus ou moins avancées.

2. Cinèses de maturation.

Dans les jeunes oocytes, comme dans les jeunes spermatocytes, au début de la prophase hétérotypique, nous trouvons les mêmes stades du schéma classique : leptotène, leptozygotène, pachytène. Ils offrent de si grandes ressemblances avec ceux de la spermatogenèse que nous croyons pouvoir nous dispenser de les exposer à nouveau dans tous leurs détails.

Les quelques figures de notre mémoire les montrent suffisamment. La FIG. 39 représente le stade du bouquet mince (leptozygotène), la FIG. 40, le noyau pachytène au stade du bouquet épais. A ce stade il est bien facile de constater que le nombre des anses est réduit et égal à 9. Pour ne pas obscurcir la figure, nous avons dessiné ici seulement une partie du noyau.

Sur la FIG. 41 nous voyons le pachytène déroulé, où les anses se détendent et subissent une décoloration graduelle; en même temps apparait un nucléole arrondi et intensément coloré.

L'état plus accentué de la dislocation des éléments chromatiques et de l'accroissement du nucléole est reproduit dans la FIG. 42, qui montre aussi une croissance considérable du corps protoplasmique de la cellule.

Pendant la période du grand accroissement, FIG. 41—49, qui commence déjà au stade de pachytène déroulé et dure assez longtemps, semble-t-il, les éléments chromatiques, en perdant de plus en plus leur colorabilité, deviennent indéchiffrables et invisibles. Le noyau et le protoplasme s'accroissent beaucoup, le nucléole augmente de volume et, à la fin de cette période, montre, après certaines fixations et colorations spécifiques, par ex. après la solution de HERTWIG et le triacide-BIONDI, ou la triple coloration d'EHRLICH, une coloration particulière et une structure vacuolisée, FIG. 49 (1).

Quand l'oocyte a atteint son maximum de volume, les éléments chromatiques apparaissent de nouveau en forme de chromosomes doubles constitués de deux branches nettement individualisées, et en nombre réduit, à savoir 9. Au début ils sont disposés à la périphérie du noyau sous la membrane, qui commence à se montrer avec un contour irrégulier, ainsi que l'indique notre FIG. 50. Chacun de ces chromosomes est entouré d'une substance homogène.

Un peu plus tard ces chromosomes diacinétiques, aux contours lisses et nets, se ramassent au centre de l'oocyte et la membrane nucléaire, qui est en train de se dissoudre, paraît encore plus festonnée et moins visible.

Des stades analogues à celui de la FIG. 50 ne se présentent qu'assez rarement; ce qui prouve que la condensation de la substance chromatique, la recoloration des éléments et la dissolution de la membrane s'accomplissent très rapidement en comparaison de la longue période de croissance.

Le grand accroissement de l'oocyte se caractérise aussi par la production dans le protoplasme des enclaves vitellines. Ces dernières apparaissent, au commencement de la période, seulement autour du noyau, tout près de sa membrane, FIG 44—46. Puis, quand leur nombre augmente, elles se trouvent partout, jusqu'à la périphérie de la cellule. Il faut remarquer encore qu'au moment de la première apparition des enclaves vitellines, la membrane

(1) Si on emploie comme coloration l'hématoxyline de HEIDENHAIN et si on ne différencie pas assez longtemps, le nucléole paraît généralement homogène et noir durant tout le stade d'accroissement.

nucléaire montre toujours, après les différentes méthodes de fixation que nous avons utilisées, des contours très irréguliers, FIG. 44—46.

Après la disparition complète de la membrane nucléaire, FIG. 51, nous trouvons au centre de l'oocyte ces 9 éléments chromatiques composés (tétrades) fixés sur un petit grumeau de plasma dense, finement granuleux et homogène, qui s'est formé par l'agglomération des petites masses de substance homogène qui entouraient chacun des chromosomes. Ce grumeau plasmatique avec les chromosomes se dirige vers la périphérie de l'oocyte, FIG. 52—54.

Il est bien difficile de concevoir comment HEMPELMANN a pu observer à ce stade une vésicule germinative claire avec 4 tétrades (sa fig. 56), parce que, les images chromatiques, qui sont ici d'ailleurs très nettes, mises à part, le grumeau caryoplasmatique, auquel les chromosomes sont fixés, tranche bien nettement après toutes les fixations et toutes les colorations sur le milieu environnant, par la densité et l'homogénéité de sa structure. L'oocyte possédait aux stades précédents pendant la période d'accroissement, comme nous l'avons vu, vraiment une vésicule germinative claire et transparente, mais alors cette vésicule se trouvait au centre de la cellule et elle était grande et pourvue encore de la membrane, FIG. 42—49. Il est très clair que c'est ce grumeau caryoplasmatique qui donne naissance au fuseau, FIG. 54—55.

Les deux divisions de maturation se produisent coup sur coup. La substance achromatique (le fuseau, les sphères, les fibrilles) ressort très distinctement.

Les éléments chromosomiques au fuseau sont d'habitude, mais pas toujours, moins serrés l'un contre l'autre qu'aux stades correspondants dans les spermatocytes. En général, après la période de croissance, les cinèses polaires dans les œufs du *Saccocirrus major*, en ce qui concerne les relations chromosomiques, ressemblent beaucoup, comme au commencement de la période méiotique, à celles de la spermatogenèse; nous nous bornons donc à donner ici seulement quelques dessins intéressants pour illustrer ces phénomènes, FIG. 56—61.

Après l'expulsion du polocyte II, le noyau de l'œuf se reconstruit très vite, FIG. 62.

La description détaillée des processus méiotiques dans les cellules sexuelles du *Saccocirrus major*, que nous venons de terminer, nous permet maintenant de rechercher quelle signification nous devons attribuer aux différents stades et pour quel mode de réduction ils plaident.

Les minces filaments leptotènes représentent des chromosomes et sont identiques aux chromosomes univalents de la dernière télophase goniale.

Pendant le passage du stade leptotène au stade pachytène, l'appariement latéral des filaments indépendants implique une paraconjugaison (conjugaison parallèle) des chromosomes homologues -- les anses pachytènes sont bivalentes, la réduction du nombre de chromosomes n'est pas réelle, mais seulement apparente (pseudoréductionnelle).

Pendant la première cinèse de maturation (hétérotypique), les chromosomes conjugués se séparent de nouveau, se dirigent vers les pôles opposés et passent dans les spermatocytes de IIe ordre. Par la seconde cinèse (homéotypique), qui est une simple division équationnelle, les moitiés longitudinales des chromosomes univalents se distribuent aux noyaux des spermatides.

En vue du fait que notre objet ne permet pas, dans le noyau reconstruit, après la dernière cinèse goniale, de distinguer les contours des éléments chromosomiques et de suivre tous les changements qu'ils subissent et qu'à cause de cela il est impossible de voir la transformation directe des 18 chromosomes télophasiques en un même nombre de filaments leptotènes de la I^e prophase de maturation, on peut nous objecter que c'est seulement une supposition bien personnelle de voir, aux jeunes stades de la I^e prophase de maturation, dans les filaments doubles, un rapprochement parallèle de chromosomes homologues et qu'il paraît beaucoup plus simple d'expliquer la disposition des éléments par une apparition très précoce de la fente longitudinale dans les chromosomes naissants. Les uns y trouveront un clivage longitudinal de deux chromosomes soudés par l'une de leurs extrémités; les autres, adversaires de la théorie de l'individualité des chromosomes, peuvent aller plus loin et voir dans chaque paire de filaments chromatiques deux moitiés-sœurs d'un seul chromosome, formées tout à fait indépendamment l'une de l'autre aux dépens du réseau nucléaire (1). Conformément à de pareilles vues, il faudrait naturellement changer aussi l'interprétation des stades suivants.

A ce sujet nous voulons, en laissant une discussion plus détaillée pour la partie générale de ce mémoire, remarquer tout de suite, qu'en réalité

(1) La dernière interprétation passe presque sans discussion sur la question de la réduction numérique des chromosomes et admet seulement une certaine réorganisation de la substance chromatique par laquelle, d'une façon *inexplicable*, les chromosomes apparaissent en un nombre réduit de moitié.

chez beaucoup d'objets les images observées à certaines phases de la maturation chromatique peuvent être expliquées très différemment selon la manière de voir de l'auteur, et n'excluent pas les interprétations que nous venons de mentionner; mais pourtant il ne faut pas oublier que jusqu'à présent une vraie preuve morphologique n'a encore été fournie dans aucun animal pour de pareilles interprétations; — nous rappellerons plus loin l'argument décisif que nous ont donné nos propres recherches sur l'*Aphis saliceti* en faveur d'une préréduction après paraconjugaison.

D. Pénétration du spermatozoïde dans l'oocyte et fécondation de l'œuf.

Il nous reste maintenant à discuter encore la question de la pénétration des spermatozoïdes dans les jeunes oocytes et la question du sort des œufs mûrs et fécondés.

Hempelmann, le premier, en 1906, a fait une très intéressante découverte chez le *Saccocirrus major*, à savoir que les spermatozoïdes, se trouvant toujours en grande quantité dans le réceptaculum des femelles, se dirigent directement dans l'ovaire et pénètrent dans les tout jeunes oocytes.

La même année, indépendamment de Hempelmann, van Gaver et Stephan ont constaté aussi la pénétration très précoce des spermatozoïdes dans les oocytes du *Saccocirrus*. Les observations de ces derniers diffèrent cependant de celles de Hempelmann en ce qu'ils admettent une polyspermie et croient que, pendant la période d'accroissement, des spermatozoïdes pénètrent à plusieurs reprises dans un même oocyte. De tous les spermatozoïdes qui ont pénétré dans l'oocyte, un seul, le dernier spermatozoïde, semble-t-il, deviendrait le pronucleus mâle, tous les autres seraient assimilés par le protoplasme et favoriseraient ainsi la nutrition des œufs.

Hempelmann, au contraire, établit que dans chaque oocyte il ne pénètre qu'un seul spermatozoïde qui ultérieurement se développe en pronucleus mâle, destiné à se fusionner avec le noyau de l'œuf.

Sur ce point nous pouvons confirmer les données de Hempelmann. Les oocytes très jeunes encore (tout de suite après la dissolution des anses pachytènes dans la vésicule germinative) reçoivent chacun un seul spermium, FIG. 43, qui jusqu'à la fin de la période de croissance reste sans changement dans le protoplasme de la cellule et alors commence à se rétracter et changer de forme, comme le montre la FIG. 38.

Après l'expulsion du second polocyte, la tête du spermium se transforme en pronucleus mâle, en même temps que les chromosomes de l'œuf reconstruisent le pronucleus femelle.

Après avoir reçu un seul spermatozoïde, l'oocyte n'est plus capable d'en recevoir un autre. A toutes les phases de l'accroissement des oocytes, nous n'avons trouvé toujours dans le plasma qu'une seule tête de spermium et jamais des aspects qui puissent servir d'indice d'une résorption de la substance chromatique des spermatozoïdes surnuméraires.

Au contraire, nos observations ne sont pas tout à fait en accord avec les données de HEMPELMANN au sujet de la fusion des deux pronuclei, c'est-à-dire de la fécondation réelle.

D'après la description qu'il a donnée dans sa dernière publication (1912), les œufs se trouvent presque toujours encore dans l'ovaire quand les deux pronuclei sont complètement développés. Parfois cependant on observerait des œufs déjà dans le cœlome, chez lesquels les noyaux seraient justement en train de se reconstruire (sa fig. 63).

Les deux pronuclei des œufs qui sont passés dans le cœlome resteraient très longtemps l'un près de l'autre en état de repos et en forme de vésicules. Seulement très rarement on verrait dans le cœlome du *Saccocirrus major* les œufs mûrs qui contiennent un seul très grand noyau — le résultat de la fusion des pronuclei mâle et femelle.

Contrairement à tout cela, nous avons établi tout à fait sûrement que dans les cas normaux la fusion des deux pronuclei a lieu encore pendant le séjour des œufs dans l'ovaire, FIG. **63—65** Le noyau de segmentation ainsi formé paraît très grand, correspondant aux volumineux pronuclei qui se sont fusionnés. HEMPELMANN, dans son premier travail (1906), où il était sous ce rapport plus près de la vérité, a dessiné un tel œuf dans la fig. 19. Après le passage de l'œuf dans le cœlome, le grand noyau devient petit : sa membrane se dissout, sa substance chromatique se concentre en un amas de filaments minces et granuleux, FIG. **66—67**. Tous les œufs, qui en un nombre très grand remplissent le cœlome, possèdent seulement un noyau relativement assez petit, aux deux pôles duquel on voit souvent les centrosomes et les fibrilles astériennes.

La thèse de HEMPELMANN à savoir que les œufs qui flottent dans le cœlome contiennent généralement encore deux pronuclei non fusionnés, peut sans doute s'expliquer par ceci que l'auteur, comme le prouve sa fig. 63, considère d'une part le noyau de segmentation, qui est devenu déjà petit,

comme un pronucleus, et d'autre part un corps homogène (une enclave plasmatique) comme le second pronucleus. De tels corpuscules plasmatiques arrondis et homogènes (cf. notre FIG. 67) se trouvent parfois en nombre plus grand (2, 3) et s'observent encore pendant les premiers stades de segmentation dans les différents blastomères. Leur substance n'a rien à faire avec la chromatine : après coloration au BIONDI-*triacide*, ces formations se teintent en violet foncé. Nous n'avons pas suivi leur genèse, mais nous supposons qu'ils représentent un dérivé de certaines substances nucléolaires, qui sont entrées dans le protoplasme après la dissolution de la membrane du syncaryon.

Comme HEMPELMANN l'a très bien observé, on ne trouve jamais dans le cœlome du *Saccocirrus major* des œufs déjà segmentés.

On peut facilement cependant obtenir leur développement, si on prend une femelle remplie d'œufs fécondés et si on la dissèque dans l'eau de mer. L'eau de mer stimule la segmentation et au bout d'environ un quart d'heure nous trouvions déjà le stade de deux blastomères, FIG. 68 69.

Il nous reste encore à dire quelques mots sur la dernière publication de BUCHNER (1914) qui vient de paraître. L'auteur ne s'arrête que très peu sur les relations chromosomiques dans le *Saccocirrus*; d'ailleurs à en juger par ses dessins, on peut supposer qu'une fixation défectueuse du matériel ne lui a pas permis d'en faire une étude plus détaillée.

BUCHNER s'occupe tout spécialement des changements que subit la longue queue du spermatozoïde après que la tête de ce dernier a pénétré dans l'oocyte. Au début de la période d'accroissement, la queue, dans sa plus grande partie, se trouve en dehors de l'oocyte et, à cause de sa minceur et de sa transparence, demeure invisible. Après, la queue commence à se rétracter et alors sa partie extérieure entre dans le protoplasme de l'oocyte et, en se tordant, déforme les contours de la cellule à un tel point que parfois les bourgeons formés sous la poussée des anses de cette queue se détachent tout à fait. La queue subit une plasmolyse et se décompose en petites gouttes qui ne tardent pas à disparaitre

Nous avons aussi observé la présence de la queue du spermatozoïde et sa dégénérescence dans les oocytes relativement jeunes (p. exempl. les FIG. 45–46), mais nous doutons un peu que tous les aspects que nous donne BUCHNER soient tout à fait normaux et si vraiment l'élasticité des replis de cette queue explique les bourgeonnements que montrent les oocytes dessinés par BUCHNER — on pourrait songer à des phénomènes pathologiques ou artificiels.

A la fin de son mémoire l'auteur proteste vivement contre nos données de 1913, d'après lesquelles les œufs qui se trouvent dans le cœlome possèdent généralement déjà un petit syncaryon, et il assure que, d'après ses recherches, la fusion des pronuclei s'accomplit très rarement dans l'ovaire, mais qu'au contraire, en examinant des centaines d'œufs dans le cœlome, il a constaté chez eux les deux pronuclei seulement en train de se reconstruire. L'auteur ne donne d'ailleurs aucune indication sur la provenance de son matériel et le moment de la fixation.

Nous devons maintenir, sans aucune modification, notre interprétation, fondée sur l'examen d'un très grand nombre d'œufs.

IV. DISCUSSION GÉNÉRALE.

MÉCANISME DE LA RÉDUCTION.

On sait que c'est Van Beneden qui, en 1883, dans son travail classique « Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire », a constaté que les cellules sexuelles mûres de l'*Ascaris* ne contiennent que la moitié du nombre normal des chromosomes et que la fécondation rétablit le nombre complet.

Depuis ce temps l'attention de la plupart des cytologistes s'est fixée sur cette question : quand et de quelle façon s'opère dans les cellules sexuelles cette réduction du nombre de chromosomes, et l'intérêt attaché à cette question, loin de diminuer, augmente plutôt d'une année à l'autre. Cela s'explique d'une part par la faveur dont jouit l'opinion qui attribue aux chromosomes un rôle important comme instrument de la différenciation ontogénétique et par conséquent de l'hérédité et, d'autre part, par la brillante théorie de l'individualité des chromosomes construite surtout par Boveri. Nous n'avons pas l'intention de donner ici une revue complète de la riche littérature sur les processus de la réduction chromatique, mais nous nous bornerons seulement aux études les plus importantes et nous mentionnerons les interprétations les plus intéressantes de ces phénomènes, en sorte que même le lecteur qui n'a pas spécialement travaillé dans cette branche de la cytologie, puisse se former une idée claire de l'état actuel de la question (1).

(1) Une discussion très détaillée du problème de la réduction chromatique se trouve dans les excellents mémoires de Korschelt et de Heider de 1903, et de Grégoire de 1910. Dans ce dernier,

En passant en revue les principales interprétations, nous en ferons la critique, en nous appuyant spécialement sur les observations que nous avons faites nous-même sur les Insectes et les Annélides.

Dans notre description nous suivrons le plan suivant.

A. *Réduction sans intervention des cinèses de maturation.*

1. Réduction prophasique avec la paracopulation des chromosomes.
2. Réduction prophasique avec la métacopulation des chromosomes.

B. *Réduction au moyen d'une des cinèses de maturation.*

1. Postréduction sans conjugaison et sans copulation des chromosomes.
2. Préréduction avec la conjugaison diacinétique ou métaphasique.
3. Postréduction après la métaconjugaison prophasique.
4. Préréduction après la métaconjugaison prophasique.
5. Préréduction après la paraconjugaison prophasique.
6. Parthénogenèse et préréduction après paraconjugaison.

C. *Théorie de la chiasmatypie.*

D. *Interprétations, pour la réduction numérique, des adversaires de la théorie de l'individualité des chromosomes.*

A. Réduction sans intervention des cinèses de maturation.

1. Réduction prophasique avec la paracopulation.

Dans cette façon de voir, la réduction du nombre de chromosomes s'accomplirait définitivement pendant la première prophase et les deux cinèses de maturation seraient équationnelles. Le fondateur de cette opinion est Boveri (1887), qui, en étudiant la formation des globules polaires chez l'*Ascaris megalocephala*, a conclu que chacune des tétrades prophasiques, qui se trouvent ici en nombre haploïdique, se forme par le double clivage longitudinal d'un chromosome *bivalent*, qui lui-même serait le résultat d'une fusion *complète* de deux chromosomes univalents. Mais déjà en 1904, Boveri, tenant compte des recherches de différents auteurs sur la conju-

l'auteur, après avoir donné d'une façon très claire une classification nette de toutes les recherches récentes, tâche, à la lumière d'une profonde analyse cytologique, de démontrer l'unité essentielle du processus méiotique dans les deux règnes. Grégoire s'occupe aussi des cas spéciaux et de travaux incomplets qui ne se rangent pas bien sous les schémas connus, mais ces cas, quoique parfois bien intéressants, ne peuvent pas être envisagés ici par nous, étant données les limites restreintes que nous avons posées à notre mémoire.

gaison des chromosomes, changea d'opinion, et maintenant, chez le même *Ascaris*, il est prêt à voir dans les processus qui conduisent à la formation des tétrades diacinétiques, non pas une réduction réelle du nombre des chromosomes, mais seulement une réduction apparente (pseudoréduction). La composition des tétrades, de quatre bâtonnets parallèles, s'expliquerait par la conjugaison latérale de deux chromosomes clivés longitudinalement.

Boveri trouve une confirmation de cette interprétation dans le fait que, chez une femelle de l'*Ascaris megalocephala*, il a observé des tétrades composées non pas comme d'habitude de quatre bâtonnets tout à fait identiques, mais de deux bâtonnets plus longs et de deux plus courts (1).

Il est évident d'après Boveri, que seuls les éléments de la tétrade qui se correspondent deux par deux, représentent des moitiés longitudinales de chromosomes somatiques et que les deux éléments doubles mais de longueur différente, doivent représenter deux chromosomes associés. Lorsque les tétrades, au cours des cinèses de maturation, se dissocient en leurs composants, une des cinèses doit séparer les chromosomes entiers (cinèse réductionnelle) et l'autre séparer les moitiés longitudinales (cinèse équationnelle).

A l'heure actuelle il n'y a que peu d'auteurs (Bonnevie, Vejdovsky, Winiwarter et Sainmont) qui adoptent une interprétation analogue à la première opinion de Boveri.

Bonnevie (1906) admet pour le mollusque *Enteroxenos œstergreni* la copulation parallèle (2) des chromosomes homologues pendant la première prophase de maturation.

L'espace longitudinal, qui se trouve entre les chromosomes en copulation, s'oblitère au stade pachytène pour réapparaître à la fin de ce stade dans le noyau diplotène.

Pendant la première métaphase de maturation et de même pendant la seconde, les chromosomes associés ne se séparent pas, et les éléments bivalents, tout en retenant leur duplicisme, subissent de vraies divisions équationnelles. Les cellules sexuelles mûres reçoivent donc le nombre réduit de chromosomes *bivalents*. Ce n'est que pendant les cinèses de segmentation que se réaliserait la fusion complète des chromosomes. D'après cela, le processus de la réduction commencé pendant la prophase I, ne s'achève que

(1) Cette différence morphologique des chromosomes dans l'*Ascaris megalocephala* a été constatée indépendamment par Montgomery (1904, 1909).

(2) Nous appellerons avec Vejdovsky, « copulation », l'union définitive de deux chromosomes, et « conjugaison », l'union temporaire.

dans les cellules embryonnaires de la génération suivante par une fusion définitive des chromosomes accolés dans un nouvel individu-chromosome, qui représente un mélange du chromosome grand-paternel avec le chromosome grand-maternel.

Ce mode de réduction chromatique est admis par Bonnevie non seulement pour tous les mollusques, mais aussi pour les autres groupes animaux.

A. et K. E. Schreiner (1907), après avoir étudié le même objet *Enteroxenos*, ont critiqué sévèrement non seulement l'interprétation de Bonnevie, mais même l'exactitude de ses observations. Ils établissent pour cette forme la paraconjugaison et la préréduction.

Il faut accorder plus d'attention aux intéressants travaux de Vejdovsky (1907, 1912) sur les Annélides *(Enchitraeidæ)* et sur les *Locustidæ (Decticus verrucivorus* et *Diestramena marmorata)*, de Bonnevie (1908, 1911) sur les Annélides (*Nereis limbata*, *Thalassema mellita*, *Cerebratulus lacteus)* et *Allium cepa*, et de Winiwarter et Sainmont (1909) sur le chat.

Ces auteurs admettent que la réduction définitive du nombre de chromosomes se réalise pendant la première prophase de maturation au moyen de la copulation parallèle de minces éléments univalents, qui forment ainsi un *nouvel* élément plus épais et bivalent (« mixochromosome » de Winiwarter et Sainmont).

L'appariement des éléments étant ici non pas temporaire, mais définitif, il en résulte que les deux mitoses de maturation divisent les mixochromosomes en de vraies moitiés longitudinales et sont, comme les mitoses somatiques, équationnelles.

L'argument le plus grave en faveur de cette opinion consiste, d'après ces auteurs, dans le fait que pendant le stade pachytène les éléments bivalents — résultant de l'appariement latéral des filaments leptotènes — se montrent indivis dans les objets étudiés par eux, et ne manifestent aucun duplicisme; aussi disent-ils qu'il n'y a guère de critérium qui puisse permettre de prétendre que la fente longitudinale du stade suivant (le stade diplotène) passe dans le même plan suivant lequel s'est réalisée auparavant l'association des chromosomes (1).

(1) L'opinion si décidée de Vejdovsky concernant la fusion définitive des chromosomes, est en relation avec son opinion spéciale sur la structure et la genèse des chromosomes en général. Aussi trouvons-nous utile de dire ici quelques mots de ce dernier point.

Vejdovsky, en reprenant l'étude de la structure spirale des chromosomes, que Baranetzky

Étant donné que chez les autres animaux et les autres plantes les différents auteurs (GRÉGOIRE : *Lilium, Osmunda, Allium, Ophryotrocha;* MARÉCHAL : *Sélaciens;* SCHLEIP : *Planaria;* BAEHR : *Aphis, Saccocirrus;* BORDAS : *Sagitta;* MONTGOMERY : *Euschistus,* etc.) ont constaté un duplicisme des éléments plus ou moins net depuis le moment du rapprochement par paires des filaments leptotènes jusqu'à la métaphase I, où se produit la dissociation, il est presque nécessaire d'admettre que, même dans le cas, où les anses pachytènes paraissent indivises, les dualismes n'ont pas disparus, mais sont seulement voilés à nos yeux par un rapprochement très intime des composants et par leur entrelacement.

C'est à cause de cela que GRÉGOIRE (1904, 1905, 1907, 1910) s'est élevé vivement contre l'adoption de la paracopulation. Aux spéculations théoriques il joint l'argument, qu'après avoir étudié les mêmes objets *(Lilium, Allium)*, où les observateurs précédents ont trouvé les anses pachytènes indivises, lui et ses élèves, à l'aide d'une meilleure technique, sont parvenus à constater partout un duplicisme des éléments plus ou moins net.

a décrite le premier (1880), et en se basant sur ses propres observations, arrive aux conclusions suivantes

Les chromosomes sont formés de deux composants : un substratum homogène peu colorable — linine, autour de la surface duquel court un filament chromatique qui se colore très intensivement avec les substances colorantes basiques — le chromonème. Dans le chromosome mûr qui se prépare à la division il est difficile de découvrir cette spirale, parce que, à cause du rapprochement étroit des tours de spire, la surface du chromosome paraît formée d'une substance chromatique homogène.

A la télophase, dans les chromosomes-filles, les liens intimes entre les deux composants se relâchent : la spirale chromatique se dégage du substratum achromatique et, en formant des anastomoses, donne avec les chromonèmes des autres chromosomes naissance au réseau nucléaire; d'autre part, la linine des chromosomes se gonfle et, en se dissolvant peu à peu, se transforme en l'enchylème, ou suc nucléaire.

Les chromonèmes télophasiques dégagés, comme nous l'avons dit, de la linine, représentent des ébauches (des germes : « Anlagen ») des chromosomes de la nouvelle génération Au début ils ne sont formés que de chromatine, mais ensuite, dès avant la formation du réseau nucléaire, ils se différencient d'eux-mêmes en un substratum achromatique lininien et en des granules chromatiques (« chromomères ») dispersés sur ce substratum.

A la prophase les anastomoses disparaissent, le nombre de granules chromatiques disposés le long des spirales augmente et, à cause du rétrécissement du substratum achromatique, les granules se rapprochent si étroitement que bientôt ils se touchent l'un l'autre et donnent aux éléments l'aspect d'un chapelet. L'augmentation de la substance chromatique amène son arrangement spirale autour de l'axe lininien achromatique, quand ce dernier se raccourcit et s'épaissit.

Les tours de spire extérieurs se rapprochent tellement étroitement que la substance extérieure du chromosome mûr paraît comme une couche chromatique continue et le chromosome lui même comme formé d'une masse homogène.

Cette structure des chromosomes mûrs permet seule, d'après VEJDOVSKY, au clivage longitudinal de partager tout à fait précisément la substance maternelle en deux chromosomes-filles. Et

En ce qui concerne nos propres observations, dans tous les objets que nous avons eu l'occasion d'étudier jusqu'à présent et qui appartiennent aux différents types du règne animal (les vers, les insectes), nous n'avons nulle part observé dans les noyaux pachytènes des éléments simples (indivis), mais toujours nous constations, si non dans toutes les anses, du moins dans beaucoup d'elles, un duplicisme plus ou moins marqué se manifestant parfois par de petites boutonnières locales ou par une bifurcation des bouts libres.

Tout cela nous a permis de conclure que dans un même noyau pachytène il ne peut y avoir, entre les anses qui trahissent le dualisme et celles qui ne le font pas, de différence fondamentale : une fusion définitive des gamomites ne se réalise dans aucune et les gamomites conservent leur autonomie.

Il faut encore mentionner que BONNEVIE en 1908, ayant dû admettre l'existence du duplicisme des anses pachytènes, fait découvert et défendu

---

c'est justement dans ce fait que réside la signification de la structure qui se prépare pour ce but pendant la prophase.

Une organisation de ce genre est admise pour les chromosomes par BONNEVIE (1908, 1911. 1913) et K. E. SCHNEIDER (1910). Ce dernier décrit dans chaque chromosome fille (les noyaux de la larve de la Salamandre) deux filaments spirales, tandis que BONNEVIE, comme VEJDOVSKY, n'observe dans ses objets qu'une spirale unique.

D'après VEJDOVSKY, les filaments leptotènes représentent des chromonèmes extérieurs dégagés du substratum intérieur lininien pendant la dernière télophase goniale. Ces filaments leptotènes ne sont pas aptes à la division longitudinale et à cause de cela ils s'étirent, perdent leur forme spiralée et s'unissent deux par deux, formant ainsi une *nouvelle* génération de chromosomes Au moment de la copulation, les filaments sont formés d'une substance gélatineuse achromatique, dans laquelle se trouvent disposés en une rangée unique les granules ou segments chromatiques, « chromomères » Les filaments possèdent ainsi la structure qui est nécessaire pendant la copulation pour mélanger leur substance. La fusion des substances lininiennes précède la fusion des chromomères. Le nombre de chromomères varie même dans les filaments d'une longueur égale, et à cause de cela on observe souvent que les deux éléments d'une même paire possèdent un nombre différent de chromomères, ainsi p ex. chez le *Decticus verrucivorus* les composants de la plus grande paire peuvent avoir dans l'un des noyaux représentés, l'un 8, l'autre 10 chromomères et dans l'autre noyau, l'un 6 et l'autre 10 chromomères. Les chromomères impairs, c'est à dire ceux qui, se trouvant dans un élément, n'ont pas de partenaire correspondant dans l'élément-jumeau, forment dans le mixochromosome des segments plus petits que ceux qui se sont formés par la fusion de deux chromomères correspondants des composants homologues.

Les segments chromatiques peuvent, en se rapprochant de plus en plus, former dans un mixochromosome mûr une unique spirale chromatique extérieure ; cela se voit surtout dans les oocytes de *Diestramena marmorata*, et une telle structure, d'après VEJDOVSKY, exclut complètement la possibilité d'une séparation ultérieure des copulants-jumeaux pendant les mitoses de maturation et exige catégoriquement pour ces mitoses l'adoption de divisions longitudinales équationnelles ; en d'autres termes, en principe il n'y aurait pas de différence entre les mitoses somatiques et les cinèses de maturation.

par les autres auteurs (1), s'efforce néanmoins de montrer que l'on peut admettre malgré cela que, pendant la première prophase de maturation, il se réalise une fusion définitive des chromosomes homologues et que les cinèses de maturation n'impliquent pas un mécanisme réductionnel. Elle se fonde sur la considération suivante. Si à un stade quelconque le rapprochement des deux chromosomes est tellement intime qu'un échange réciproque de parties peut se produire entre eux, nous n'avons plus le droit de dire que les moitiés longitudinales du chromosome bivalent qui se séparent ensuite, sont identiques avec les chromosomes univalents qui se sont associés auparavant. Nous ne savons donc plus, si c'est une complète fusion de deux chromosomes qui a eu lieu ou seulement un échange de parties et nous n'avons pas de possibilité de décider, si c'est pendant la première mitose de maturation ou pendant une des suivantes que se désunissent les parties qui ont conservé leur autonomie.

Contre cet argument de Bonnevie on peut rappeler une très intéressante description de Montgomery (1911), de la conjugaison des idiochromosomes dans la spermatogenèse chez l'*Euschistus*. Ici, pendant la période d'accroissement, les deux idiochromosomes — l'un grand, l'autre petit — s'associent si intimement que les limites entre eux disparaissent complètement, et dans l'élément bivalent ainsi formé il n'y a aucun indice apparent de son origine double : même les vacuoles qui se sont formées auparavant dans chaque idiochromosome se fusionnent maintenant en une seule.

Aux stades de la prophase I plus avancés cet élément bivalent se décompose de nouveau en ses deux composants; de plus ces derniers montrent *les mêmes grandeurs relatives* qu'ils avaient avant la conjugaison. Cela nous prouve que malgré l'apparence d'une complète fusion de leurs substances, les chromosomes retiennent leur indépendance.

Par analogie nous avons le droit de supposer que pendant la conjugaison des autosomes, même dans les cas où les leptonèmes très rapprochés paraissent former des anses pachytènes indivises, la fusion définitive des conjugants en un élément nouveau — mixochromosome — ne se réalise pas et que les autosomes, qui en tout cas représentent des éléments non moins actifs que les idiochromosomes, ne perdent pas leur autonomie.

Il est naturel de songer ici au processus de la conjugaison chez les ciliates, avec lequel on peut comparer la paraconjugaison des chromosomes

(1) Selon son nouveau schéma tous les éléments chromatiques après l'appariement synaptique doivent être indivis.

homologues, les paternels avec les maternels. Chez ces infusoires pendant la conjugaison deux individus s'associent tellement intimement que dans les endroits où ils se touchent les limites de leurs corps disparaissent ; il se fait entre les conjugants un échange de substances qu'on peut étudier sous le microscope, et après cela ils se séparent. On peut bien admettre qu'un semblable échange de matières se produit entre les chromosomes qui se conjuguent, quoiqu'il soit très peu probable que nous puissions le constater un jour sous le microscope faute d'une technique suffisante.

2. Réduction prophasique avec la métacopulation des chromosomes.

Haecker, après avoir à plusieurs reprises changé d'avis sur les processus de la maturation chromatique, a proposé enfin en 1910 le schéma suivant de la réduction.

Les chromosomes homologues paternels et maternels s'accolent par leurs bouts (« Métasyndesis »). Cet accolement se réalise sans doute au commencement de la période d'accroissement des cytes. Les éléments bivalents ainsi formés se divisent équationnellement pendant les cinèses de maturation; il en résulte que chaque chromosome des cellules sexuelles mûres est formé par moitié d'un chromosome paternel et par moitié d'un chromosome maternel. L'indice morphologique de cette composition se trouve dans une fente transversale claire, « Querkerbe », située au milieu de chaque élément. Dans l'œuf fécondé (qui possède en réalité le nombre tetraploïdique de chromosomes) et dans les cellules du nouvel organisme qui en provient, les chromosomes retiennent cette « Querkerbe ». Ce n'est qu'à un stade ultérieur, pendant la formation des glandes sexuelles, que s'achève la fusion complète des métacopulants et que disparait la fente transversale (« Teleutosyndesis »). Ainsi les chromosomes goniaux doivent être déjà dépourvus de « Querkerbe » et ne trahir par aucun indice leur origine double.

Quoique Haecker se soit formé cette conception du mécanisme de la réduction, surtout en se basant sur ses propres études et celles de ses élèves sur les Copépodes, néanmoins, étant sceptique en ce qui concerne toutes les opinions courantes au sujet de cette question, il étend son point de vue aux autres objets. Qu'une telle généralisation soit inadmissible, c'est ce qui résulte très clairement de nos études sur la spermatogenèse de l'*Aphis saliceti*. Le seul fait que dans notre objet les spermatogonies contiennent 5 chromosomes de même taille et qu'à la première prophase de maturation

il se forme à leur place deux chromosomes doubles et un simple, *tous de même longueur* démontre suffisamment la faiblesse des raisonnements théoriques de HAECKER. Puis, nous n'avons jamais observé au milieu des éléments chromatiques de fente transversale ni dans les mitoses somatiques, ni dans les mitoses méiotiques (v. la figure de texte p. 439).

Mais même les résultats de HAECKER sur les Copépodes ne soutiennent pas la critique

Premièrement. pour tous ceux qui sont familiers avec la question de la maturation chromatique, il est évident que seule l'analyse détaillée des jeunes stades de la prophase hétérotypique est à même de nous donner une idée claire de la genèse des gemini; or, HAECKER ne se base que sur l'étude de la structure et des allures des chromosomes mûrs pendant les mitoses de maturation.

En second lieu, HAECKER, comme nous l'avons déjà mentionné, n'a pas observé des fentes claires dans les chromosomes des spermatogonies et des oogonies; cependant les recherches récentes de KRIMMEL (1910), sur le *Diaptomus coeruleus*, les y ont démontrées à ce stade; de plus, le nombre *normal* de chromosomes dans les gonies constaté par cet auteur, de même que par CHAMBERS (1912), pour les *Cyclops americanus*, *Cyclops parcus* et *Cyclops brevispinosus* exclut l'idée d'une « métasyndèse » plus précoce des chromosomes homologues dans les générations plus jeunes des cellules sexuelles. Il faut ajouter qu'on trouve la fente transversale („Querkerbe") décrite par HAECKER, non seulement chez les Copépodes, mais aussi, d'après beaucoup d'auteurs, chez les autres formes, dans les noyaux somatiques et sexuels, p. ex. MARCUS (1906) chez l'*Ascaris canis*, DE LA VALLE (1908) chez la *Salamandre*, POPOFF (1908) chez la *Paludina vivipara*, AGAR (1911, 1912) chez le *Lepidosiren paradoxa* (1), etc. Ces fentes tranversales ne se trouvent pas toujours au milieu des chromosomes; elles peuvent se placer plus près d'un bout, p. ex dans les chromosomes diacinétiques des *Cyclops parcus* (♀) d'après CHAMBERS (1912), dans les cellules somatiques et sexuelles du *Lepidosiren paradoxa* d'après AGAR (1911, 1912), dans les cellules somatiques du *Trillium* d'après GRÉGOIRE et WYGAERTS (1903). Si on tient compte du fait que les chromosomes homologues (paternels et maternels), excepté les idiochromosomes, sont *toujours* de même taille, il

(1) Chez cette forme la fente transversale se manifeste surtout nettement dans les mitoses spermatogoniales qui précèdent immédiatement la prophase méiotique, où, d'après HAECKER, devrait s'accomplir déjà la copulation suivante des chromosomes.

est évident qu'une « Querkerbe », qui sépare les parties de différente longueur, ne peut pas être regardée comme une preuve morphologique de la métasyndèse accomplie entre les chromosomes homologues.

Dans ces fentes transversales nous devons plutôt voir un indice que parfois les chromosomes représentent des éléments composés (« Sammelchromosomen » BOVERI), résultant de l'association d'un certain nombre de chromosomes indépendants.

A. et K. E. SCHREINER (1908) ont observé dans les anses pachytènes plus d'une fente transversale dans le même élément. En ce qui concerne les fentes transversales dans les anses pachytènes au stade de bouquet, observées et dessinées par les cytologistes de Munich (GOLDSCHMIDT, POPOFF, WASILIEFF, BUCHNER), comme une expression manifeste de la métaconjugaison nous en parlerons dans un autre chapitre de ce mémoire.

B. Réduction au moyen d'une des cinèses de maturation.

1. Postréduction sans conjugaison et sans copulation des chromosomes.

WEISMANN en 1887 a fait la supposition que la réduction des chromosomes se produirait d'une manière très simple et résulterait de ce que la moitié des chromosomes entiers, rassemblés à l'équateur, se dirige vers un pôle et l'autre moitié vers le pôle opposé. De plus, se fondant sur ses propres observations et celles de BLOCHMANN (1887), d'après lesquelles les œufs parthénogenétiques qui ne réduisent pas leur nombre de chromosomes n'expulsent qu'un globule polaire et les œufs qui exigent la fécondation et subissent la réduction en éliminent *deux*, il conclut que, seule, la *seconde* mitose de maturation peut représenter une division réductionnelle. Cette conclusion, en partie purement théorique, sur le mécanisme de la réduction a paru trouver une confirmation dans certains travaux cytologiques. Notamment PETRUNKEWITSCH (1901), chez l'abeille, GOLDSCHMIDT (1905), chez le *Zoogonus mirus*, décrivent que la réduction du nombre de chromosomes s'accomplit pendant la *seconde* mitose par un partage dicentrique des chromosomes somatiques en deux groupes égaux.

Mais aucun de ces cas ne peut être reconnu par nous comme vraiment établi. Les recherches de MEVES (1903, 1907), sur la spermatogenèse des faux bourdons, ont contredit les résultats de PETRUNKEWITSCH sur l'ovogenèse de l'abeille. L'étude par A. et K. E. SCHREINER (1908) et par GRÉGOIRE (1908) des préparations du *Zoogonus*, qui ont servi à GOLDSCHMIDT pour créer son « Primärtypus », plaide en faveur du schéma hétérotypique.

Les résultats de Wassermann (1913), acquis récemment sur le même objet (pseudo-réduction par métasyndèse), contredisent aussi ceux de Goldschmidt.

2. Préréduction après conjugaison diacinétique ou métaphasique.

Pendant toute la prophase I, ni la conjugaison ni la pseudo-réduction n'ont lieu, les chromosomes univalents restent en nombre *diploïdique*. A la fin de la prophase I ou au commencement de la métaphase, les chromosomes, tout à fait formés et mûrs, se conjuguent, après quoi les conjugants par l'action de la cinèse I se séparent de nouveau et se dirigent vers les pôles opposés.

Pendant la seconde cinèse de maturation, les chromosomes, en se divisant équationnellement, se décomposent en leurs moitiés longitudinales, qui se remarquent chez certaines formes déjà à la fin de la prophase I.

Ce type de réduction a été proposé pour la première fois par Henking (1891), pour le *Pyrrhocoris apterus*, et ensuite très minutieusement développé par Korschelt (1895), pour l'*Ophryotrocha puerilis*.

Plus récemment cette conjugaison tardive et de courte durée a été décrite par N. M. Stevens (1905, 1906) pour les Aphides par Tannreuther (1907) pour le *Melaxantus salicola* (aussi un puceron), par Dehorne (1910, 1911) pour le *Sabellaria spinulosa* et pour le *Lanice conchilega*, par Lawson (1912) pour les *Smilacina*, *Kniphofia* et *Aloe* (1).

La forme ronde des chromosomes diacinétiques chez *Pyrrhocoris* ne permet à Henking que de parler seulement d'un appariement des éléments univalents sans pouvoir distinguer la manière de cette association par paires — accolement ou aboutement.

Toutes ces descriptions d'une conjugaison des autosomes déjà formés et mûrs doivent être regardées à l'heure actuelle comme réfutées (2). Les anciennes observations de Henking sur le *Pyrrhocoris* n'ont pas trouvé de confirmation dans les travaux de Gross (1906) et de Wilson (1909), qui ont étudié le même objet et de même dans toutes les recherches plus récentes sur d'autres punaises.

Grégoire et Deton (1909) et A. et K. E. Schreiner (1909), en étudiant les phénomènes de la maturation chromatique dans les cellules

(1) Les données d'Agar (1911) et de Schellenberg (1911) sur l'appariement des chromosomes diacinétiques univalents ne rentrent pas ici, parce que, d'après les observations des auteurs, il s'agit là d'une *seconde* conjugaison qui a été précédée d'une conjugaison normale au début de la prophase et d'une déconjugaison à un stade ultérieur.

(2) En ce qui concerne les allosomes (idiochromosomes), une conjugaison tardive de ces éléments a été constatée dans beaucoup de formes (Wilson, Stevens).

sexuelles de l'*Ophryotrocha* ont obtenu des résultats qui ne sont pas d'accord avec ceux de Korschelt et qui plaident en faveur de la pseudo-réduction prophasique par paraconjugaison. Le nombre diploïdique, d'après ces auteurs, est 8 et non pas 4, comme le prétendait Korschelt.

En ce qui concerne les recherches de Stevens et de Tannreuther sur les Aphides, nous avons montré déjà dans notre travail de 1908 que les auteurs cités non seulement ont faussement déterminé le nombre somatique de chromosomes dans les cellules mâles, mais aussi n'ont pas aperçu des stades très importants de la première prophase, à cause de quoi ils se sont fait une idée tout à fait incorrecte du moment de la conjugaison des chromosomes et du moment de la formation des éléments bivalents.

Les travaux de Dehorne, dès leur apparition, ont été soumis par nous à la critique (1912). Sur l'exemple de l'*Aphis saliceti* qui dans le sexe mâle se caractérise par un nombre *impair* de chromosomes (un fait qui a priori contredit une des plus importantes thèses de Dehorne, notamment celle du « duplicisme constant des chromosomes »), nous avons démontré toute l'inexactitude de son interprétation des mitoses somatiques et des mitoses maturatives.

La description des processus de la maturation chromatique chez le *Saccocirrus major* d'après Hempelmann est tellement particulière et elle s'harmonise si peu avec nos connaissances sur le mécanisme de la réduction que cela nous a déterminé à étudier nous-même cet objet. Nos résultats, publiés sous une forme concise en 1913 et maintenant plus en détail, établissent la préréduction après la paraconjugaison et ainsi sont d'accord avec ceux de A. et K. E Schreiner (1906, 1906) et ceux de Grégoire et Deton (1906), qui ont étudié d'autres Annélides marins *(Tomopteris, Ophryotrocha)*.

3. Postréduction après métaconjugaison prophasique.

Aux termes de sa première formule, ce mode de la réduction chromatique peut être exprimé de la façon suivante.

Aux stades jeunes de la prophase I de maturation, la chromatine nucléaire représente un long filament tortueux. Ce filament se clive longitudinalement et se divise ensuite transversalement en segments, dont le nombre équivaut seulement à la *moitié* du nombre normal de chromosomes. Quand ces segments doubles se transforment en chromosomes diacinétiques, on voit que chacun d'eux est coupé au milieu d'une fente transversale, et ainsi prend l'aspect d'une tétrade.

D'accord avec la théorie de l'individualité des chromosomes qui ne permet pas d'admettre un changement dans le nombre de chromosomes, la fente transversale indique la bivalence des éléments et doit correspondre à la place où deux chromosomes goniaux univalents se sont accolés par leurs bouts — pseudo-réduction.

La métaphase I sépare dans chaque tétrade les moitiés longitudinales identiques — et est donc équationnelle.

La métaphase II, par un clivage transversal, dissocie, dans les éléments bivalents, les chromosomes univalents, qui les ont formés, et est réductionnelle. Un tel type de réduction décrit par Rückert (1894) pour les Copépodes *(Cyclops strenuus, Heterocope robusta, Diaptomus gracilis)* par Haecker (1895) pour les Copépodes *(Canthocamptus staphylinus)* et par vom Rath (1892, 1895) pour les Copépodes *(Calanus gracilis, Heterocope saliens, Euchæta marina, Anomalocera pætersonii)* et beaucoup d'autres, et pour les Orthoptères *(Gryllotalpa vulgaris)*, a été nommé par Haecker « type *Weismannien* », parce qu'il répond bien aux postulats théoriques de Weismann.

Les descriptions des auteurs cités ont séduit par leur simplicité, ont joui un certain temps d'une assez grande autorité et joué un rôle important dans l'évolution de nos idées sur les phénomènes de réduction. Elles ont pour la première fois introduit dans la cytologie la notion de la pseudo-réduction qui, en présence de tous les chromosomes somatiques, réalise seulement une diminution numérique apparente des chromosomes par l'appariement des éléments univalents en groupes bivalents.

En contradiction foncière avec ce « type *Weismannien* » se trouvent les observations de beaucoup de cytologistes modernes (Montgomery, Grégoire, Schreiner, Maréchal, Lerat, Baehr, Davis et autres) qui nient catégoriquement la formation d'un filament chromatique unique continu à n'importe quel stade de la prophase synaptique et qui dans les minces filaments leptotènes, comme dans les anses pachytènes épaisses, voient des éléments libres.

Il faut ajouter que Haecker lui-même, la même année (1895), a renoncé à ce type de réduction admis pour le *Canthocamptus staphylinus*, et il a proposé pour le *Cyclops brevicornis* une interprétation nouvelle beaucoup plus compliquée.

De plus, d'après Lerat (1902, 1905), dans le *Cyclops strenuus* les processus de maturation se déroulent en harmonie avec le schéma hétéro-homéotypique, avec paraconjugaison et préréduction.

En ce qui concerne les recherches de VOM RATH sur le *Gryllotalpa*, les études plus récentes sur les Orthoptères ont contredit ses résultats, en démontrant en même temps une grande schématisation dans ses jolis dessins.

A l'heure actuelle seulement un petit nombre d'auteurs admettent encore la métaconjugaison avec postréduction : MC CLUNG, SUTTON, ROBERTSON, PINNEY, BLACKMAN. D'après leur plus récente description, au stade très jeune de la prophase synaptique les chromosomes univalents se métaconjuguent (s'apparient par leurs bouts) et forment un nombre réduit d'éléments bivalents.

Les éléments bivalents, se clivant longitudinalement, se raccourcissant et s'épaississant, prennent la forme d'anses épaisses (« loops »). Les composants univalents de chacune des anses, en variant leur position l'un par rapport à l'autre, donnent aux chromosomes des aspects divers.

La fente longitudinale peut rester visible dans ces bivalents ou disparaître. En se tordant l'un autour de l'autre, les « métaconjugants » transforment l'anse en une chaîne. S'ils s'unissent par leurs bouts libres, ils forment un anneau ; si l'anse se rompt dans l'endroit où les univalents se touchent, et si ces derniers se disposent parallèlement, il en résulte un chromosome bivalent en forme de deux bâtonnets parallèles.

Si les composants, longitudinalement clivés, en se séparant par leurs bouts libres, forment un angle de 180° et sont disposés ainsi l'un sur le prolongement de l'autre, nous avons alors une tétrade-bâtonnet (1).

Par la séparation dans les différentes directions des moitiés longitudinales de deux métaconjugants là où ils se touchent, la « tétrade-bâtonnet » se transforme en une « tétrade-croix », etc.

Pendant la Ie mitose de maturation, les chromosomes se disposent à l'équateur et s'unissent avec les fibrilles fusoriales de telle façon que la métaphase I ne sépare pas les chromosomes conjugués, mais divise équationnellement les éléments bivalents le long de leur fente longitudinale.

La décomposition des chromosomes bivalents en leurs univalents se réalise pendant la métaphase II (la division réductionnelle).

MC CLUNG (1900, 1902, 1905), SUTTON (1902), ROBERTSON (1908) et PINNEY (1908) ont décrit ce type de postréduction pour les Orthoptères. BLACKMANN (1905) l'a admis pour la spermatogenèse dans le *Scolopendra*.

(1) Beaucoup d'auteurs emploient le nom « té rades » comme synonyme des « gemini » pour désigner en général les chromosomes bivalents hétérotypiques déjà plus ou moins formés, même si la structure de ces éléments ne montre pas quatre parties.

Comme chez les Orthoptères les tétrades bivalentes montrent chez les Myriapodes des figures très compliquées et se prêtent difficilement à l'analyse cytologique. Chez les objets plus favorables sous ce rapport, comme par ex. chez le *Tomopteris* (A. et K. E. Schreiner, 1906), l'*Aphis saliceti*, le *Saccocirrus major* (Baehr, 1908—1913), l'*Euschistus* (Montgomery, 1911), les images de la prophase, métaphase et anaphase I et tous les stades de la *première* cinèse II montrent très clairement que les conjugants se dissocient à la *première* cinèse et nōn pas à la seconde, celle-ci représentant une vraie division longitudinale des univalents.

Il faut encore ajouter que Morse (1909), Vejdovsky (1912) décrivent chez les Orthoptères à la I^e prophase non pas un aboutement des chromosomes homologues, mais une association latérale.

Les figures encore inédites que nous avons observées nous-même, en étudiant différentes espèces d'Orthoptères, parlent aussi très nettement en faveur de la paraconjugaison.

4. Préréduction après métaconjugaison prophasique.

D'après les auteurs qui rentrent dans cette catégorie, la période synaptique ne montre pas de filaments minces, appariés latéralement, ou, si des apparences de ce genre existent, elles doivent leur origine à un parallélisme accidentel ou à un clivage longitudinal homologue de celui des chromosomes somatiques aux prophases diploïdiques. Les chromosomes diacinétiques ou les « gemini » sont le résultat d'une métaconjugaison réalisée au commencement de la prophase hétérotypique des chromosomes somatiques homologues (« conjugation end to end » Montgomery, « métasyndèse » Haecker, « télosynapsis » Wilson).

Les gemini prennent des formes différentes selon la position que les métaconjugants univalents occupent l'un par rapport à l'autre. Si dans les chromosomes diacinétiques les conjugants se trouvent en association latérale, cela s'explique par un repliement au milieu de l'élément bivalent et par un rapprochement parallèle des conjugants (« second contraction », « secondary looping », „ Faltung »). Le stade de cette contraction secondaire s'observe à la fin de la prophase synaptique, c'est-à-dire bien après le stade où l'appariement des chromosomes par leurs bouts s'est accompli Ce stade de repliement, comme il parait, dure très peu de temps et à cause de cela il a pu rester inaperçu pour la plupart des cytologistes (1).

(1) Beaucoup de métasyndétistes admettent l'existence aux jeunes stades de la prophase hétérotypique d'un unique filament chromatique continu. Ce filament ou spirème continu est formé de chromosomes somatiques enfilés et agglutinés bout à bout. Après il se tronçonne, en un nombre haploïdique de segments bivalents. Chacun de ces segments bivalents se compose de deux chromosomes homologues (l'un paternel et l'autre maternel) en association métasynaptique.

Pendant la Ie cinèse de maturation a lieu la séparation des conjugants, et de cette façon le nombre de chromosomes diminue de moitié — préréduction.

Pendant la IIe mitose s'achève la division longitudinale des chromosomes univalents, qui a déjà été préparée auparavant par la fente longitudinale observée à la prophase I.

L'idée d'une métaconjugaison de ce genre a été introduite dans la cytologie par Montgomery, qui a nommé ce processus « end to end conjugation ». En 1910 pour la première fois, Montgomery interprète dans ce sens les phénomènes de maturation des cellules sexuelles mâles dans le *Peripatus* et plus tard, dans toute une série de publications sur la spermatogenèse (1901—1910), il décrit des processus semblables pour les Hémiptères, pour le *Plethodon*, le *Lycosa*, le *Syrbula* et autres. D'après ses observations, de suite après la dernière division goniale les chromosomes télophasiques s'accolent bout à bout (dans les éléments en forme d'anneaux il se fait un accolement par les deux bouts). Au stade postsynaptique (équivalent du stade diplotène des autres auteurs) chaque conjugant univalent se clive longitudinalement et de cette manière les tétrades définitives bivalentes se forment. Pendant la première mitose de maturation les composants des tétrades — les chromosomes univalents — se dissocient. Les univalents, pendant la seconde cinèse, se divisent équationnellement.

Il faut rappeler que Montgomery a, le premier, en 1901, tout à fait clairement formulé l'hypothèse que dans l'œuf fécondé et dans n'importe quelle cellule somatique à chaque chromosome maternel, qui vient de l'œuf, correspond un chromosome paternel morphologiquement égal, qui provient du spermatozoïde et que, à la première prophase méiotique, ne s'apparient que les chromosomes homologues, maternels et paternels. Cette hypothèse possède un fort appui dans les formes qui se caractérisent par des dimensions très différentes de leurs chromosomes — les Orthoptères (Sutton, Mc Clung), les Hémiptères hétéroptères (Wilson), les Hémiptères homoptères (Stevens, Baehr), beaucoup de plantes (Strasburger, Miyake, Clemens-Müller et autres).

Dans les mitoses somatiques de ces objets les différents types de grands, de moyens et de petits chromosomes sont toujours représentés par *paires* (excepté les formes mâles avec l'hétérochromosome ou avec les idiochromosomes). Pendant la première cinèse de maturation les mêmes contrastes dans les dimensions se retrouvent, mais les différents types y sont

représentés en nombre *singulier*. Pour les partisans de la théorie de l'individualité des chromosomes il en ressort tout à fait naturellement qu'un appariement des chromosomes de même taille s'y est produit, et à cause de cela nous avons une apparente diminution de moitié du nombre des chromosomes.

Un rôle assez important dans la propagation des idées métasyndétiques a été joué par les recherches de Farmer et Moore.

Dans leurs travaux de 1903 et 1905 sur différents animaux et plantes, ces auteurs développent avec beaucoup de talent la théorie du repliement et de la „ seconde contraction " avec préréduction. C'est au même résultat qu'arrive aussi en 1903 Montgomery, dans son travail sur la spermatogenèse des Batraciens, après avoir un peu modifié et approfondi sa première opinion sur la „ end to end conjugation ". Les recherches très détaillées de H. L. Davis (1908) sur la spermatogenèse dans les Orthoptères et les nombreuses publications des cytologistes de Munich (Goldschmidt 1906, 1908, Popoff 1907, Wasilieff 1907, Buchner 1907) sur la maturation dans divers invertébrés, ont accru le nombre des métasyndétistes préréductionnistes.

Il faut encore ajouter que ces derniers cytologistes décrivent dans tous leurs objets une fente transversale au milieu de chaque anse pachytène — aspect qui, d'après eux, est décisif en faveur de l'aboutement des chromosomes.

Parmi les botanistes la théorie de la métaconjugaison a trouvé dans ces derniers temps beaucoup de partisans (Mottier 1907, 1908; Gates, 1908, 1911; Digby, 1910, 1912, 1914; Fraser et Snell, 1911).

De l'avis des métasyndétistes modernes (Farmer, Brunelli, Digby, Fraser et Snell et autres), leur interprétation aurait reçu maintenant une confirmation importante dans la découverte, à l'aide d'une technique microscopique plus perfectionnée, d'un clivage longitudinal de chromosomes télophasiques somatiques, par suite duquel chacun des chromosomes prophasiques apparaît dès le début comme composé de deux moitiés longitudinales. Ce duplicisme des chromosomes devient invisible aux stades plus avancés de la prophase à cause du rapprochement plus intime des moitiés longitudinales, et il réapparaît à la métaphase.

Constatant ainsi une grande ressemblance entre les images de la prophase somatique et celles de la prophase hétérotypique, les métasyndétistes ne peuvent admettre qu'un duplicisme si semblable puisse avoir une signi-

fication fondamentalement différente dans ces deux sortes de prophases, et ils considèrent comme tout à fait prouvé que la fente, qui clive les chromosomes en deux moitiés longitudinales à la télophase de la dernière division goniale, réapparaît à la prophase présynaptique (hétérotypique). Il en résulte que le parallélisme et le dualisme des éléments de la I[e] prophase n'ont rien de commun avec une paraconjugaison (conjugaison parallèle) des chromosomes.

Dans les cas où, entre la dernière cinèse goniale et la prophase I de maturation, il n'y a pas de vrai stade de repos, les métasyndétistes assurent qu'ils sont parvenus à suivre la transformation immédiate des chromosomes clivés longitudinalement de la dernière télophase goniale en doubles chromosomes hétérotypiques (1).

Les métasyndétistes soulignent que seule leur interprétation de la période méiotique s'harmonise bien avec ce qu'on observe dans les autres mitoses d'un même organisme, et dans cette facilité de trouver partout l'identité et l'harmonie ils voient un grand avantage de leurs opinions.

Cette interprétation métasyndétique des processus de la maturation a rencontré une forte critique de la part des partisans de la paraconjugaison.

Ainsi GRÉGOIRE (1904 1910), qui d'ailleurs admet aussi la préréduction, nie tout à fait catégoriquement la genèse des gemini au moyen de la métaconjugaison et du « repliement ». Il reproche à certains métasyndétistes d'attacher trop peu d'attention aux stades qui précèdent la formation des anses pachytènes, stades où, d'après son avis, il y a des preuves irréfutables de la genèse de ces anses aux dépens de deux éléments plus minces (leptonèmes) par un rapprochement parallèle.

D'autres métasyndétistes ont le tort, d'après lui, de négliger ou de ne pas étudier suffisamment le stade strepsitène, alors qu'une analyse détaillée de ce stade peut nous montrer que les moitiés longitudinales des anses pachytènes en se séparant, en se tordant l'une autour de l'autre, en se raccourcissant et en se clivant, se transforment peu à peu en branches constitutives des chromosomes diacinétiques.

En ce qui concerne la question de l'identification du duplicisme des

(1) GOLDSCHMIDT, déjà en 1906, a exprimé la supposition que les images de la prophase hétérotypique, qu'on interprète en faveur de la conjugaison parallèle des chromosomes leptotènes, peuvent être expliquées tout simplement comme une formation des chromosomes qui depuis le commencement de leur différenciation sont déjà doubles à cause du précoce clivage longitudinal. Le duplicisme est ainsi seulement une expression de la future séparation équationnelle des moitiés longitudinales.

éléments, aux stades initiaux de la I[e] prophase, avec le clivage longitudinal des chromosomes télophasiques de la dernière cinèse goniale, Grégoire admet que les dualismes prépachyténiques représentent non pas des éléments clivés par une fente longitudinale, mais une *association* parallèle deux par deux de minces filaments chromatiques indépendants. L'étude des objets favorables sous ce rapport *(Allium)* montre que chacun de ces minces filaments prend son origine dans une partie nucléaire qui correspond complètement à ce qui dans les mitoses somatiques forme, si l'on peut dire ainsi, le germe d'un chromosome et à cause de cela équivaut à un chromosome univalent somatique (1).

De plus, Grégoire nie en général l'existence du clivage longitudinal des chromosomes télophasiques, et les images que les auteurs modernes (Brunelli, Dehorne, Digby, Fraser et Snell, et autres) prennent pour un tel phénomène, il les explique par une simple « alvéolisation » des chromosomes qui sont en train de reconstruire le noyau (2).

Comme nous l'avons dit déjà plus haut, quand nous parlions de la métacopulation, nos recherches sur la spermatogenèse dans l'*Aphis saliceti* sont en contradiction avec les thèses des métasyndétistes, et cela reste vrai en ce qui concerne la métaconjugaison avec préréduction que nous discutons maintenant.

Chez notre forme, après la dernière cinèse spermatogoniale, cinq chromosomes, tous de même dimension, entrent dans le noyau quiescent, et à la prophase hétérotypique nous trouvons trois éléments, dont *deux* sont doubles et un simple.

Si on se met au point de vue métasyndétiste, la longueur *égale* de *tous* les éléments de la I[e] prophase est inexplicable, de même que le duplicisme seulement de *deux* de ces éléments. En effet, si d'une part on admet un accolement bout à bout des chromosomes homologues, si d'autre part on regarde le duplicisme des éléments hétérotypiques comme identique à une

(1) A. et K. E. Schreiner ont aussi décrit dans les *Tomopteris*, *Salamandra*, *Myxine*, la formation des filaments leptotènes présynaptiques en nombre diploïdique aux dépens d'anses chromosomiques. Il en est de même de H. Davis (1908) et Robertson (1908) pour les Orthoptères, Wilson (1912) pour les Hemiptères, Bordas (1913) pour le *Sagitta*. Il faut aussi mentionner ici les recherches de Vejdovsky (1912) sur les Orthoptères. Chez le *Desticus* (♂) les filaments leptotènes se différencient directement des chromosomes de la dernière cinèse spermatogoniale par un gonflement et une dislocation de ces derniers.

(2) L'alvéolisation des chromosomes a été décrite pour la première fois, par Grégoire, en 1903 *(Trillium)*, 1906 *(Allium)*, (Grégoire et Wygaerts 1903, Grégoire 1906); elle a été signalée auparavant par Eismond (1898) dans les chromosomes des cellules de segmentation chez l'Axolotl.

fente longitudinale de chromosomes somatiques, il semble qu'il en résulterait que les deux chromosomes bivalents doivent être deux fois plus longs que le troisième (1), et que *tous* les trois doivent être doubles (2).

D'après les métasyndétistes-préréductionnistes, la I^e cinèse de maturation, en séparant les chromosomes *entiers*, diffère fondamentalement de toutes les autres mitoses malgré une apparente ressemblance, parfois même très frappante. A notre avis, il est évident que la prophase elle-même de cette cinèse, qui précisément prépare ce processus réductionnel, doit différer fondamentalement de toutes les autres prophases qui conduisent seulement à une division équationnelle des chromosomes. Aussi accordons-nous peu d'importance à l'argument, si souvent cité par les partisans de la métaconjugaison, à savoir qu'au cas où des explications diverses seraient possibles pour les mêmes images de la I^e prophase méiotique, c'est leur interprétation qui posséderait clairement l'avantage en ce qu'elle implique la ressemblance et le parallélisme entre la prophase hétérotypique et la prophase somatique dans un même organisme.

En ce qui concerne enfin l'existence constante d'une fente transversale au milieu des anses pachytènes, décrite par GOLDSCHMIDT, POPOFF, WASILIEFF, BUCHNER pour différents animaux et interprétée par eux comme une preuve morphologique d'une union métasyndétique de deux chromosomes univalents, les recherches d'autres auteurs sur les mêmes objets ou sur des objets voisins ne l'ont pas vérifiée.

Il faut encore remarquer que MONTGOMERY, un des fondateurs de la théorie de la métaconjugaison, dans son dernier travail (1911), après avoir réétudié plus fondamentalement la spermatogenèse dans l'*Euschistus*, décrit maintenant pour cette forme la paraconjugaison et renonce tout à fait catégoriquement et loyalement à son ancienne opinion sur la « end to end conjugation ».

5. Préréduction après paraconjugaison prophasique.

Après la dernière cinèse goniale, les chromosomes univalents subissent des changements plus ou moins radicaux et se transforment en minces fila-

(1) Chez l'*Aphis saliceti*, on ne trouve rien qui puisse être envisagé comme indice de la « contraction secondaire » au sens de MC CLUNG et FARMER-MOORE.

(2) Aux prophases somatiques, d'après l'hypothèse que nous discutons, les *moitiés* longitudinales qui résultent de la division des chromosomes à la télophase précédente, se réunissent parallèlement et forment des chromosomes univalents.

ments chromatiques — les filaments leptotènes ou gamomites — qui, se rapprochant par paires, se conjuguent latéralement. Nous appelons paraconjugaison ce mode de conjugaison (1).

Les gamomites, en s'associant intimement et se raccourcissant, forment des filaments plus épais — anses pachytènes.

Dans la plupart des animaux les filaments leptotènes manifestent une orientation polaire très caractéristique : ils dirigent leurs deux extrémités libres vers le même pôle du noyau, butent contre la membrane nucléaire et prennent ainsi la forme d'anses voutées laissant le pôle opposé du noyau libre d'éléments chromatiques (le stade du « bouquet mince »). Cette orientation en bouquet persiste plus ou moins longtemps dans les noyaux pachytènes (le stade du « bouquet épais »). Après, les anses pachytènes se séparent de la membrane nucléaire, perdent leur forme en arc et se dispersent dans le noyau (« pachytène déroulé » GRÉGOIRE).

Dans les végétaux les images claires du bouquet se trouvent beaucoup plus rarement, ce qui s'explique sans doute par une grande longueur des éléments et par la contraction synaptique plus forte qu'on observe à ces stades (GRÉGOIRE, 1910) (2).

---

(1) « Zygotènie » GRÉGOIRE, « side by side conjugation » MONTGOMERY, « parasyndèse » HAECKER, « parasynapsis » WILSON.

(2) Peut-être ne serait-il pas inutile de rappeler que le ramassement des éléments de la prophase I en un peloton dense, qu'on décrit sous le nom de « contraction synaptique » (GRÉGOIRE) ou de « synizesis » (MC CLUNG), est regardé par certains auteurs (MOORE 1895, FARMER et MOORE 1905, BOVERI 1904, MORSE 1909, VEJDOVSKY 1907, 1912, SCHLEIP 1909, JORDAN 1911, MIYAKE 1905, OVERTON 1906, et autres) comme un phénomène vital tout à fait normal, tandis que les autres cytologistes (MC CLUNG 1900, 1902, JANSSENS 1901, 1905, MEVES 1907, DEMOLL 1912, et autres) voient dans cette contraction une chose artificielle, résultant d'une sensibilité très forte du noyau à l'égard des liquides fixateurs à ce stade.

BOVERI prête beaucoup d'attention au ramassement synaptique des éléments et y voit un stade auquel les chromosomes homologues, qui se trouvaient jusque là assez écartés l'un de l'autre, éprouvent une attraction réciproque très forte, se cherchent mutuellement et s'apparient.

GRÉGOIRE (1907, 1910) admet que même dans les objets où la contraction synaptique serait en partie naturelle, elle ne peut avoir d'autre signification que celle d'un phénomène accompagnant les processus de réduction, qui sont la chose essentielle. Cela résulte de ce que, dans certains objets, où on ne trouve pas le ramassement synaptique, les stades de réduction les plus importants sont, dans leur évolution, identiques à ceux qui se déroulent dans les objets où se produit un tel ramassement.

Beaucoup d'auteurs, par malentendu, appellent faussement cette contraction « synapsis », tandis que le nom synapsis est donné par MOORE (MOORE 1895, FARMER et MOORE 1905) pour déterminer les processus, qui, à la prophase hétérotypique, mènent à la réduction numérique des chromosomes au moyen de l'association par paires des éléments prèméiotiques. WILSON, dans son mémoire de 1912, insiste très énergiquement sur la nécessité de retenir pour le « synapsis » la première signification fixée par MOORE, et d'accord avec cela il nomme la paraconjugaison « parasynapsis » et la métaconjugaison « métasynapsis ».

En ce qui concerne le mode de la réalisation de cette conjugaison latérale, il faut encore souligner certains points. Il y a ici deux types principaux, liés entre eux par des transitions.

Le premier type, très répandu parmi les animaux et parmi les plantes, se caractérise par les traits suivants. Au commencement tout le réseau nucléaire se transforme en minces filaments leptotènes, et après seulement ces éléments, déjà tout à fait bien formés, en se rapprochant par paires, se conjuguent synchroniquement dans toute leur longueur ou, dans le cas d'une polarisation des éléments, l'association débute aux extrémités libres et avance le long des conjugants. Le second type se rencontre seulement chez les animaux et il diffère du premier par le fait qu'ici les filaments leptotènes commencent la conjugaison alors qu'ils ne sont pas encore tout à fait formés sur toute leur longueur; le rapprochement des éléments qui vont s'associer débute à un pôle, tandis que le reste du noyau est rempli encore du réseau nucléaire. Au fur et à mesure que de ce réseau se différencient de nouvelles parties des filaments leptotènes, elles conjuguent et prolongent ainsi les anses pachytènes qui s'en forment.

Certains auteurs — paraconjuguistes (STRASBURGER 1904, 1906, OVERTON 1905, 1909, ROSENBERG 1904, 1907, 1909, et autres) établissent surtout pour les plantes pauvres en chromatine encore un troisième type particulier avec les « prochromosomes » (1).

D'après leurs descriptions, les noyaux cytaires au repos montrent les prochromosomes en nombre diploïdique et même, très souvent, ceux-ci

(1) Le terme « prochromosomes » a été introduit par OVERTON (1905), pour déterminer dans les noyaux quiescents les corps chromatiques qui, d'après les botanistes STRASBURGER, MIYAKE, OVERTON lui-même, ROSENBERG, DAVIS et autres, représentent des parties de chromosomes qui ne sont pas entrées dans le réseau nucléaire. L'existence des « prochromosomes » dans les noyaux au repos doit prouver la survivance des chromosomes d'une génération des noyaux à l'autre et servirait ainsi de confirmation morphologique de la théorie de l'individualité des chromosomes. De semblables prochromosomes ont été constatés aussi chez certains animaux.

Ainsi FARMER et MOORE (1905) les trouvent chez le *Periplaneta americana*, MOORE et EMBLETON (1906) chez le Triton, et ces derniers auteurs nous disent, p. 558 : « and we may say without reserve that their presence at all stages of rest between the successive premeiotic divisions seems to conclusively prove the permanence of the chromosomes from one cell generation to another ».

Il faut pourtant tout de suite remarquer que telle opinion sur le rôle des prochromosomes ne peut pas avoir une valeur générale et que jusqu'à présent dans la littérature il y a encore une grande divergence de vues en ce qui concerne la genèse et la signification de ces corpuscules. Par ex. GRÉGOIRE (1907), TISCHLER (1906), LAIBACH (1907), MOTTIER (1907, 1909), GATES (1908), DIGBY (1904) et autres, qui ont étudié ces formations dans les noyaux somatiques et sexuels des cellules végétales, les regardent non pas comme des représentants des chromosomes, mais seulement comme des agglomérations chromatiques, qui déjà, d'après leur nombre inconstant et d'après leurs dimensions et leurs formes variables, ne peuvent pas correspondre aux chromosomes.

sont dès le commencement disposés par paires. Ensuite à partir de ces prochromosomes, il se produit peu à peu une transformation du réseau nucléaire en filaments minces qui sont donc eux aussi disposés par paires dès le moment de leur différenciation. Les filaments minces (gamomites) ainsi appariés se rapprochent intimement et donnent des anses pachytènes (zygomites)

Des phénomènes du même genre sont décrits aussi par Arnold (1909) dans la spermatogenèse de l'*Hydrophilus piceus*. Après la dernière cinèse spermatogoniale et la reconstruction du noyau, les chromosomes télophasiques, au lieu de se décomposer en un réseau nucléaire, prennent la forme de masses chromatiques irrégulières. Ces masses chromosomiques en nombre diploïdique s'arrangent bientôt en paires, et chacune de ces paires donne naissance à un geminus. Les gemini montrent naturellement le nombre haploïdique.

Dans beaucoup d'objets, le duplicisme des anses pachytènes devient quelque temps indistinct, mais bientôt chaque anse apparaît de nouveau double par la séparation longitudinale des paraconjugants qui la forment (- dédoublement longitudinal - Grégoire).

Ainsi les éléments bivalents, tant au commencement qu'à la fin du stade pachytène, montrent toujours un duplicisme net. La fente longitudinale qui marque ce duplicisme représente la ligne de démarcation entre les conjugants-univalents (qui sont en train de se rapprocher ou de se séparer) et non pas un clivage longitudinal d'éléments univalents.

L'apparition nette du duplicisme (dédoublement longitudinal) est le début d'un stade pendant lequel les paraconjugants, manifestant une grande indépendance l'un envers l'autre, s'entrelacent largement et forment de longs rubans doubles, nommés par Dixon, à cause de leur ressemblance avec une tresse ou une chaine, des anses strepsitènes (- diplotènes - Winiwarter). En suivant l'évolution des éléments strepsitènes depuis le dédoublement longitudinal jusqu'au stade de la diacinèse, on peut observer dans beaucoup d'objets très distinctement que les gamomites, en s'entrelaçant, s'épaississant, se raccourcissant et parfois en se clivant longitudinalement, transforment les anses pachytènes en chromosomes diacinétiques de formes et de dimensions variées. Nous nous arrêterons ici seulement sur les figures diacinétiques les plus typiques.

Si les conjugants se trouvent disposés parallèlement l'un à l'autre, les chromosomes diacinétiques bivalents (gemini) ont l'air de bâtonnets longitudinalement clivés.

Si les conjugants sont collés par leurs deux bouts et séparés largement au milieu, il en résulte des anneaux, et si en même temps ils s'entrelacent réciproquement — des figures en huit ou des chaînes se forment.

Si les conjugants sont agglutinés seulement par un de leurs bouts et que leurs extrémités libres divergent, nous observons des V; ces dernières figures donnent l'impression de bivalents, dans lesquels les univalents se seraient unis en syndèse; seule une étude détaillée de leur genèse montre qu'aux stades précédents c'est une paraconjugaison qui a eu lieu.

Ces figures en V peuvent élargir leur angle jusqu'à 180°, et alors un conjugant se trouve en ligne droite sur le prolongement de l'autre.

Les conjugants manifestent parfois déjà à la diacinèse un clivage longitudinal, et cela complique beaucoup la structure des figures. Ainsi, par ex., dans le dernier cas que nous venons de discuter, si le clivage longitudinal des conjugants a eu lieu, le chromosome bivalent se montre constitué de quatre parties — « la tétrade-bâtonnet ». — Si dans une tétrade-bâtonnet les chromosomes-filles de chaque conjugant divergent là où les conjugants se touchent, il se forme une tétrade-croix.

Quand approche le moment de la première métaphase, les chromosomes diacinétiques subissent une condensation graduelle qui, souvent, voile leur structure compliquée : la fente longitudinale de chacun des conjugants, de même que la lumière des anneaux, s'oblitèrent, et les chromosomes définitifs prennent peu à peu l'aspect d'éléments lisses et homogènes. Il arrive pourtant des cas où les chromosomes hétérotypiques se disposent dans la plaque équatoriale de la I[e] mitose en retenant encore leur ancienne forme si caractéristique de croix, d'anneaux, etc., et grâce à cela on peut constater que la I[e] cinèse de maturation accomplit la séparation des deux composants d'un geminus diacinétique. La première mitose de maturation représente ainsi un processus *réductionnel*. Pendant la seconde mitose, les chromosomes univalents se divisent équationnellement.

D'après les parasyndétistes, il faut voir la préparation à cette division dans la fente longitudinale des conjugants à la diacinèse.

La différence fondamentale entre l'interprétation parasyndétique et l'interprétation métasyndétique consiste dans la valeur attribuée à la fente longitudinale de l'anse pachytène. La première interprétation voit dans cette fente non pas un clivage longitudinal d'un chromosome, mais une ligne de démarcation de deux chromosomes somatiques, associés latéralement, le vrai clivage des paraconjugants univalents ne se produisant que

plus tard, à la diacinèse, ou même encore seulement à l'anaphase I. Au contraire, d'après la seconde interprétation le duplicisme de chaque anse pachytène représente le vrai clivage le long de deux chromosomes somatiques aboutés, et par conséquent il est homologue au clivage simple des chromosomes dans les prophases somatiques. La limite entre les deux chromosomes conjugués, d'après cette interprétation, passe transversalement au milieu de l'anse pachytène.

Pour les parasyndétistes, comme pour les métasyndétistes, il ne faut pas attacher grande importance au point de savoir quelle position occupent, l'un par rapport à l'autre, les conjugants qui forment un geminus aux stades prépachytènes ou aux stades post-pachytènes. Ainsi, par ex., chez le *Batrachoseps*, d'après Janssens, qui admet pour cette forme la paraconjugaison, la transformation du réseau nucléaire en filaments leptotènes commence à un pôle du noyau, et les filaments naissants sont dès leur apparition joints par paires dans leurs extrémités (« noyau amphitène » Janssens, 1905). Au fur et à mesure que la différenciation des autres parties des conjugants aux dépens du réseau nucléaire continue, la formation des anses pachytènes avance de plus en plus, et enfin le noyau nous montre des images typiques du stade pachytène.

En ce qui concerne les stades post-pachytènes, d'une part les parasyndétistes ne contestent pas que les univalents, qui forment le geminus, peuvent s'y trouver en association métasyndétique, s'ils restent en contact par un de leurs bouts et divergent à l'autre extrémité, mais c'est un phénomène *secondaire*; d'autre part les métasyndétistes décrivent les chromosomes diacinétiques, dans lesquels les conjugants se trouvent en association parasyndétique, notamment dans les cas où l'anse pachytène se rompt au niveau de l'aboutement métasyndétique et où les univalents se rapprochent parallèlement « secondary looping ».

Ainsi, nous le répétons encore une fois, parce que c'est très important — et que malheureusement beaucoup de cytologistes ne s'en rendent pas encore assez compte, — pour les deux interprétations il n'y a pas d'importance à observer comment les conjugants sont associés aux différents stades de la prophase synaptique, mais le seul point décisif est la manière dont ils sont associés dans l'*anse pachytène* — « side to side » ou « end to end ».

L'initiateur de la théorie de l'association latérale de deux filaments minces leptotènes en une anse pachytène et du clivage de cette dernière (au stade diplotène) le long de la ligne de contact des filaments joints, est

WINIWARTER. C'est lui qui en 1901 pour la première fois a proposé cette interprétation comme la plus *probable*, pour expliquer l'apparition du nombre réduit de chromosomes à la première prophase de maturation dans l'ovogenèse chez le lapin et chez l'homme.

WINIWARTER a étudié dans ses objets l'évolution des chromosomes seulement jusqu'au stade dyctié, et par conséquent il a laissé inexpliqué le sort ultérieur des gémini.

Dans son travail suivant, en collaboration avec SAINMONT (WINIWARTER et SAINMONT, 1909), sur l'ovogenèse dans le chat, il renonce à sa première opinion, considérant la conjugaison parallèle comme une association temporaire des univalents, et, suivant en cela VEJDOVSKY et BONNEVIE, il y voit maintenant une fusion définitive des univalents en un nouvel élément — le « mixochromosome » (1).

Le schéma complet de la préréduction après la paraconjugaison dans la forme que nous venons de donner, nous le devons, d'une part, à GRÉGOIRE (1904) et à BERGHS (1904), qui l'ont décrit pour les plantes *(Allium fistulosum)*, et, d'autre part, à A. et K. E. SCHREINER (1904, 1906), qui l'ont donné pour les animaux *(Myxine glutinosa, Tomopteris onisciformis)*.

Après l'apparition des travaux de ces auteurs, toute une série de cytologistes a accepté la même interprétation des processus de maturation pour d'autres objets. Ainsi parmi les recherches des zoologistes nous devons citer celles de MARÉCHAL (1904, 1905, 1907) sur les poissons (sélaciens et téléostéens), sur les tuniciers et sur l'*Amphioxus*, celles de LERAT (1905) sur les Copépodes *(Cyclops strenuus)*, celles de JANSSENS (1905) sur les Amphibiens *(Batrachoseps attenuatus)*, celles de GRÉGOIRE et DETON (1906) sur les Poly-

(1) WASSERMANN (1913), rappelant que nous avons observé chez l'*Aphis saliceti* (♂) à la prophase méiotique, à côté de deux « chromosomes », composés chacun de deux bâtonnets parallèles largement écartés, un chromosome simple (monosome), tâche d'affaiblir l'appui que nous avons trouvé dans ce fait en faveur d'une conjugaison parallèle, et à cet effet l'auteur se base sur la constatation, faite expressément par nous, que parfois à la diacinèse le troisième chromosome simple montre un faible indice d'une fente longitudinale. Cela nous semble être vraiment un malentendu, parce que tous les parasyndétistes admettent à la diacinèse la possibilité d'un clivage des conjugants univalents, et c'est de cela que dérive le nom de « tétrades » qu'on aime à donner aux chromosomes diacinétiques. Les SCHREINER ont décrit, même encore avant la diacinèse, le clivage des éléments univalents conjugués. D'ailleurs, WASSERMANN cite seulement notre mémoire de 1909. Dans cette publication, comme dans celle de 1908, nous avions pour but d'exposer surtout les relations qui existent entre le sexe et les chromosomes, et comme l'existence d'une pseudoréduction nous apparaissait avec une évidence complète, nous ne nous sommes pas arrêté en détail sur le mode de l'appariement des chromosomes homologues. C'est dans le mémoire de 1910 et surtout dans celui de 1912 que nous avons abordé à fond cette question, en nous basant sur un plus grand nombre de figures. C'est ce travail qu'aurait dû discuter WASSERMANN.

chètes *(Ophryotrocha puerilis)*, celles de A. et K. E. Schreiner (1906-1908) sur les poissons *(Spinax niger)*, sur les Amphibiens *(Salamandra maculosa)*, sur les Polychètes *(Ophryotrocha puerilis)*, celles de Schleip (1906, 1907) sur les Planaires *(Planaria gonocephala)*, celles de Baehr (1913) sur les Archiannélides *(Saccocirrus major)*, et de beaucoup d'autres.

Même pour les insectes, où la métasyndèse, décrite par Montgomery et confirmée par de nombreuses recherches en Amérique et en Europe, semblait être tout à fait sûre, on vit paraître ces derniers temps des travaux qui plaident en faveur d'une préréduction après paraconjugaison; Baehr (1908 – 1912) l'admet pour les pucerons *(Aphis saliceti)*, Debaisieux (1909) pour les Coléoptères *(Dytiscus marginalis)*, Montgomery lui-même (1911) pour les Hémiptères hétéroptères *(Euschistus)* et Wilson (1912), quoique avec certaines réserves, aussi pour les Hémiptères hétéroptères *(Oncopeltus fasciatus* et *Ligævus bicrucis)*. Parmi les botanistes le schéma de Grégoire (1904 – 1910) a été accepté par les savants suivants: Rosenberg (1905 – 1909), Strasburger (1905 - 1909), Miyake (1905), Yamanouchi (1908, 1910), Litardière (1912), et d'autres pour différentes plantes.

6. Parthénogenèse et préréduction après paraconjugaison.

L'obstacle le plus sérieux contre l'adoption et la généralisation du type parasyndétique de la préréduction se trouvait jusqu'il y a quelque temps dans les conditions chromosomiques décrites pour la parthénogenèse. Comme on sait, il paraissait tout à fait établi que, dans la plupart des formes parthénogenétiques, les œufs subissent seulement la *première* cinèse de maturation et retiennent le nombre complet de chromosomes. Ces faits, d'une part, étaient utilisés par les partisans de la postréduction comme une confirmation éloquente de leur thèse générale; d'autre part les mêmes faits ont forcé beaucoup de préréductionnistes à faire des concessions. Ainsi, même A. et K. E. Schreiner, fondateurs de la théorie de la préréduction après paraconjugaison, chez les animaux, quoiqu'ils attribuent d'une façon tout à fait catégorique à la I^e cinèse de maturation le rôle d'une division réductionnelle chez toutes les formes à reproduction sexuelle typique, admettent néanmoins pour les œufs parthénogenétiques la postréduction et ajoutent que celle-ci généralement ne parvient pas à se réaliser, la IIe cinèse étant abortive. - Während das Vorkommen dieser sog. - Postreduktion - bei keinem Objekte mit typischer geschlechtlicher Fortpflanzung als unwiderlegbar bewiesen angesehen werden kann, scheint bei mehreren sich parthenogene-

tisch entwickelnden Eiern die I. Reifungsteilung eine Æquationsteilung zu sein, während die gewöhnlich abortive II. Teilung die Reduktion bewirkt » (1906, p. 54).

Une autre difficulté plus grave encore, fournie par la parthénogenèse contre l'acceptation du schéma parasynaptique, consistait dans le fait qu'à la prophase de maturation dans les œufs parthénogenétiques, qui expulsent seulement un globule polaire et retiennent le nombre somatique de chromosomes, certains auteurs (KÜHN, *Cladocera*, SCHLEIP, *Ostracoda)* ont démontré des structures identiques à celles qui caractérisent la prophase synaptique des œufs qui exigent la fécondation, et qui dans ce dernier cas s'interprètent en faveur de la paraconjugaison (leptotène, zygotène, pachytène, diplotène ou strepsitène). — Cette ressemblance empêche de regarder ces aspects comme une expression morphologique des processus qui *mènent à la réduction de la chromatine.* Les adversaires de l'association parallèle des chromosomes homologues s'appuient là-dessus pour condamner définitivement cette interprétation (GOLDSCHMIDT, 1908, KEMNITZ, 1913, WASSERMANN, 1913).

Nos recherches sur l'ovogenèse dans les générations parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ* enlèvent toutes ces difficultés. Les structures synaptiques qu'on y observe à la prophase conduisent vraiment à la formation de gémini caractéristiques, en nombre réduit, mais à la diacinèse ces gémini bivalents se décomposent en leurs composants univalents, et par cette sorte de « déconjugaison » le nombre somatique de chromosomes se rétablit. Puis vient la période d'accroissement des oocytes, qui est suivie de l'unique cinèse de maturation, pendant laquelle les univalents se divisent équationnellement.

La décomposition des chromosomes diacinétiques doubles en un nombre diploïdique de chromosomes simples peut être comparée à la *première* cinèse méiotique dans les cellules sexuelles mâles ou dans les œufs d'hiver, où se réalise, comme il est établi, une semblable dissociation des chromosomes homologues qui forment les gémini. La différence principale consiste seulement en ceci, que dans les œufs parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ* fait défaut le mécanisme pour transporter aux pôles opposés les univalents dissociés et aussi pour diviser le corps protoplasmique de la cellule; — la conséquence en est le retour au nombre diploïdique de chromosomes et la formation pendant l'ovogenèse d'un unique polocyte. Après la décomposition des chromosomes diacinétiques en leurs composants, c'est-à-dire

après l'acte de la déconjugaison des chromosomes homologues, l'oocyte, en ce qui concerne son degré de maturation chromatique, doit être envisagé comme un oocyte de *second* ordre. Il en résulte que la période du grand accroissement des oocytes dans l'ovogenèse parthénogenétique des pucerons a lieu à l'intercinèse, et que la seule mitose de maturation qui s'y réalise correspond à la *seconde* division de maturation et non pas à la première (1).

Comme nous voyons, le cours de l'ovogenèse dans les générations parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ* s'harmonise bien avec nos opinions sur le mécanisme de la réduction au moyen de la paraconjugaison des chromosomes homologues au stade leptotène, de la déconjugaison de ces éléments à la première cinèse de maturation (division réductionnelle) et du clivage de ces univalents dissociés en moitiés longitudinales à la seconde cinèse (division équationnelle).

Il faut d'ailleurs s'attendre à ne pas rencontrer dans l'ovogenèse de tous les œufs parthénogenétiques les stades caractéristiques de la vraie prophase synaptique. Ces stades, destinés dans les cas normaux à réaliser la réduction chromatique, ont perdu dans les œufs parthénogenétiques, qui doivent retenir le nombre normal de chromosomes, toute leur raison d'être et représentent seulement une réminiscence phylogenétique : cela s'accorde d'ailleur avec l'opinion acceptée généralement que la parthénogenèse chez les animaux est dérivée du mode sexuel de reproduction.

Étant donnée la grande plasticité des processus cytologiques, l'œuf parthénogenétique, pour atteindre un si grand but que le maintien dans son noyau des deux séries d'éléments équivalents, peut, pour ainsi dire, s'engager dans différentes voies. Il peut petit à petit se délivrer des traditions ou tout de suite « brûler les étapes ». En tout cas théoriquement nous devons attendre de trouver dans les différents œufs parthénogenétiques des degrés différents de la survivance des réminiscences synaptiques. Ainsi par ex. les oocytes de l'*Aphis palmæ* montrent encore à la prophase de maturation des tendances hétérotypiques bien nettes, et ce n'est qu'à la diacinèse que se fait par dissociation des gémini en leurs composants le retour à la mitose somatique. Au contraire, c'est la disparition déjà complète des traditions synaptiques qu'on observe chez les Pemphigines, en particulier chez le *Pemphigus piriformis*, connu par sa fécondité énorme. Dans ce puceron les processus de l'ovogenèse se déroulent excessivement vite, et, malgré des

(1) Dans l'ovogenèse des œufs qui exigent la fécondation, la *seconde* cinèse de maturation représente la dernière étape des processus de maturation.

études très minutieuses, nous n'avons même pas trouvé trace des aspects caractéristiques de la prophase synaptique.

Beaucoup d'auteurs, surtout BOVERI (1890) et KORSCHELT et HEIDER, (1903), ont marqué les grandes difficultés théoriques que présentent à leur avis les cas de parthénogenèse à une seule mitose de maturation, si on tient compte du fait qu'ici ce n'est pas l'œuf mûr définitif qui commence le développement embryologique, mais une cellule sexuelle de la génération cellulaire antérieure — l'oocyte de second ordre.

L'interprétation que nous avons donnée des structures observées dans l'ovogenèse de l'*Aphis palmæ* nous semble enlever cette difficulté. En effet, la seule cinèse de maturation que nous y trouvons ne correspond pas à la première, mais à la *seconde* cinèse (la dernière étape dans les processus de maturation); *la première cinèse (réductionnelle), qui manque ici, a son équivalent dans la déconjugaison des chromosomes du noyau diacinétique.*

Nos lecteurs trouveront une discussion plus complète de cette question dans notre mémoire « Recherches sur la maturation des œufs parthénogenétiques dans l'*Aphis palmæ* », qui est prêt pour l'impression (1).

Il faut encore ajouter qu'avec les relations chez l'*Aphis palmæ* s'harmonisent très bien les données de MEVES sur la spermatogenèse de l'abeille (*Apis mellifica).*

Quoique MEVES lui-même, en adversaire militant de la théorie de l'individualité des chromosomes, nie catégoriquement l'existence d'une différence quelconque entre les mitoses de maturation et les mitoses somatiques, néanmoins ses résultats, à notre avis, étayent solidement à la fois la théorie de l'individualité des chromosomes et le schéma de réduction admis par nous — paraconjugaison et préréduction.

Les faux-bourdons, comme on sait, se développent d'œufs non fécondés qui ont subi *deux* cinèses de maturation et possèdent à cause de cela seulement la *moitié* du nombre normal de chromosomes.

Pour nous, qui croyons à l'individualité des chromosomes et admettons la préréduction, nous ne pouvons vraiment, sans construire des hypothèses additionnelles, nous représenter pour la spermatogenèse de cette forme la possibilité d'une cinèse de maturation qui serait homologue de la première dans les cas normaux, puisqu'elle devrait, d'après notre schéma, être ré-

(1) Les résultats sur l'ovogenèse de l'*Aphis palmæ* ont été publiés en polonais dans les Annales de la Société des Amis des Sciences, à Vilno, 1915–1918, vol. 6 Le mémoire en français se trouve actuellement à l'impression dans La Cellule, vol. XXX (Note de l'auteur, 25-7-1920.)

ductionnelle. Et voilà pourquoi, étant donné que le nombre haploïdique de chromosomes se trouve dans les cellules somatiques et dans les spermatogonies, il est superflu que dans les spermatocytes des faux-bourdons le nombre se réduise. D'autre part, pour nous le mécanisme même de la vraie division réductionnelle n'est concevable qu'en présence de *deux* séries de chromosomes homologues; or, ici, nous n'avons qu'une série de chromosomes univalents qui n'ont pas de partenaires pour se conjuguer et former des gémini.

Les très intéressantes recherches de notre adversaire MEVES, sur la spermatogenèse dans l'abeille, confirment complètement ces considérations et conclusions théoriques. La première cinèse de maturation y est supprimée ou plutôt elle se limite, après certains préparatifs, à l'expulsion seulement d'un petit globule protoplasmique, sans que la division du noyau ait lieu (1).

Dans les générations parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ*, l'œuf, en changeant juste à temps le mécanisme de la *première* mitose de maturation, empêche la réduction chromatique et par l'acte de la déconjugaison rétablit le nombre diploïdique de chromosomes. L'œuf parthénogenétique garde ainsi les relations chromosomiques telles qu'elles ont été créées au commencement du cycle de la reproduction par la fécondation de l'œuf d'hiver et assure le développement normal des formes parthénogenétiques de génération en génération.

Dans la spermatogenèse de l'*Apis mellifica* la *première* cinèse de maturation, réductionnelle, n'existe pas pour les noyaux des spermatocytes. Ces noyaux en subissant seulement la seconde cinèse, équationnelle, garantissent aux spermatozoïdes le nombre haploïdique de chromosomes.

De telle manière, dans les deux cas de parthénogenèse que nous venons d'analyser, la régulation des relations chromosomiques, si nécessaire pour sauver la viabilité des cellules sexuelles, se montre liée avec la *première* cinèse de maturation. Cela est tout à fait d'accord avec nos notions des processus méiotiques et apporte, pour sa part, une confirmation de la thèse que, dans les conditions normales, c'est la première cinèse de maturation et non pas la seconde qui est une division réductionnelle, prédestinée à séparer les chromosomes conjugués.

(1) De semblables relations ont été aussi décrites pour les Guêpes et les Fourmis par MEVES et DUESBERG, LAMS, GRANATA, DONCASTER, ARMBRUSTER.

C. La théorie de la chiasmatypie.

Le type de la préréduction après paraconjugaison a reçu une certaine modification de la part de JANSSENS (1909), dans sa théorie de la chiasmatypie.

D'après JANSSENS, les principales raisons qui l'ont engagé à reviser son opinion antérieure (1905) sur le mécanisme de la réduction et à se remettre à une étude plus soignée des cinèses méiotiques. ont été les suivantes.

1. Pour ceux qui admettent le schéma hétéro-homéotypique, il est bien difficile d'assigner une signification aux entrelacements si caractéristiques et si généraux des conjugants aux stades strepsitènes et diacinétiques. Si cela ne doit aboutir qu'à séparer deux chromosomes, c'est un mince résultat pour des efforts de plusieurs semaines et parfois de plusieurs mois.

2. Une autre énigme qui se dresse devant ces auteurs, c'est la présence, pendant la maturation, de deux cinèses au lieu d'une seule, ce à quoi on devrait s'attendre, si l'on admet qu'une seule de ces deux mitoses effectue la séparation des conjugants. La seconde cinèse paraît donc être une superfétation. D'autre part, est-ce qu'il ne serait pas plus raisonnable de conclure que si pendant la période de maturation une cellule sexuelle donne quatre « tides » et pas deux, c'est que ces derniers doivent avoir chacun quelque chose de particulier, et que la seconde cinèse prend part, elle aussi, à la répartition différentielle de la substance chromatique.

3. La théorie de la paraconjugaison et de la préréduction donne une explication intéressante de la loi de MENDEL, mais elle reste incomplète, parce qu'il y a des cas où le nombre de caractères allélomorphiques complètement dissociables dépasse celui des paires de chromosomes distincts.

De longues et minutieuses recherches sur le *Batrachoseps attenuatus* et sur diverses espèces de tritons ont amené JANSSENS à la conclusion suivante.

Aux stades strepsitènes et diacinétiques les chromosomes conjugués, en s'entrelaçant plus ou moins intimement, se pénètrent mutuellement : aux points de croisement ils se brisent transversalement et les segments, en s'échangeant, se resoudent en chromosomes nouveaux. Les chromosomes, qui se séparent pendant la I[e] cinèse méiotique, ne sont plus identiques aux univalents qui sont entrés en conjugaison. — De plus, dans les amphibiens étudiés par JANSSENS, les paraconjugants univalents qui forment un bivalent diacinétique sont clivés longitudinalement. Il arrive souvent

qu'aux points de croisement, la fente transversale coupe dans chaque partenaire seulement une *seule* moitié longitudinale, et de cette manière l'échange des segments et la soudure secondaire se produisent non pas entre les parties de deux moitiés longitudinales de chaque univalent enroulé, mais ces processus sont limités seulement aux parties d'*une* moitié longitudinale de chaque conjugant.

Dans les cas où les partenaires échangent entre eux seulement les segments d'une de leurs moitiés, les deux mitoses de maturation, en ce qui concerne le même chromosome définitif, sont en partie réductionnelles, en partie équationnelles. Voilà pourquoi se produisent *deux* cinèses de maturation et non pas une seule.

De plus, il s'ensuit que quatre spermatozoïdes issus d'une même spermatogonie peuvent être dans leur constitution chromatique *tous* différents.

Enfin, la théorie de la chiasmatypie, admettant un tel échange des segments entre les chromosomes conjugués, donne une explication facile de ces cas mendéliens, où il y a un plus grand nombre de caractères allélomorphiques qu'il n'y a de paires de chromosomes homologues.

Sans nous hasarder à discuter les observations de Janssens, qui nous paraissent bien précises, nous nous permettons cependant de faire quelques remarques au sujet des raisons *théoriques* que l'auteur fait valoir contre les théories actuelles et en faveur de la chiasmatypie.

Comme nous l'avons dit plus haut, Janssens, se basant sur le fait que la maturation comporte *deux* cinèses par lesquelles une gonie donne 4 tides (dans l'ovogenèse 3 abortives), trouve insuffisant a priori de se borner à admettre le dimorphisme de ces derniers, comme le font la plupart des cytologistes modernes, mais dit qu'on doit s'attendre à trouver un tétramorphisme, selon le nombre 4 de cellules tidaires.

Or, chez les formes à hétérochromosomes (les insectes, les vers, les vertébrés), c'est le dimorphisme morphologique des spermatozoïdes qui existe — dimorphisme qui est en relation causale avec le dimorphisme des sexes.

Dans la spermatogenèse des Aphides, où devraient se former aussi deux sortes de spermatozoïdes, les uns munis, les autres dépourvus de l'hétérochromosome, comme on sait, les petits spermatocytes de IIe ordre, dépourvus d'hétérochromosome et de mitochondries, dégénèrent avant de donner les spermatides; seuls les grands spermatocytes de IIe ordre avec l'hétérochromosome et avec les mitochondries sont capables d'atteindre leur dévelop-

pement définitif et de fournir des éléments fonctionnels qui, en fécondant les œufs, donnent toujours *un* seul et même sexe, à savoir des femelles.

En d'autres termes, dans les cas où d'une spermatogonie se forment quatre spermatozoïdes fonctionnels, on distingue morphologiquement deux sortes de ces éléments (1). Selon les deux classes des spermatozoïdes, les œufs fécondés donnent ici l'un ou l'autre sexe. Au contraire, dans les formes où une spermatogonie produit seulement deux spermatozoïdes fonctionnels, parce qu'après la I[e] cinèse de maturation une sorte de spermatocytes de II[e] ordre dégénère, tous les œufs fécondés donnent toujours le même sexe (♂). Il en résulte que des deux cinèses de maturation dans la spermatogenèse une seulement est responsable du dimorphisme et l'autre laisse intacte la constitution donnée et multiplie seulement équationnellement le nombre de cellules sexuelles définitives.

Ce que nous avons dit concerne seulement les hétérochromosomes et les déterminants sexuels, mais par analogie nous pouvons admettre la même chose pour les autres chromosomes et pour les autres caractères mendéliens. Tout cela nous oblige à une certaine réserve envers les « à priori » théoriques que Janssens élève contre le dimorphisme et qui lui semblent exiger le tétramorphisme pour les cellules sexuelles définitives.

D'autre part, comme nous l'avons déjà mentionné, nous sommes d'accord avec Janssens pour admettre que pendant la prophase hétérotypique les composants d'un géminus peuvent s'influencer réciproquement, échanger leurs substances, et que de cette façon les chromosomes, qui se séparent à la mitose réductionnelle, ne sont plus tout à fait identiques à ceux qui sont entrés en conjugaison.

Morgan et ses élèves ont admis, de leur côté, une sorte de chiasmatypie, à vrai dire assez différente de celle qu'a proposée Janssens. Mais comme l'interprétation de Morgan ne fait guère appel à des constatations cytologiques et se fonde presque exclusivement sur des raisonnements très subtils à propos d'expériences mendéliennes, nous ne sommes pas à même de discuter en ce moment l'intéressante hypothèse de l'éminent professeur de New-York.

(1) Généralement dans la spermatogenèse le dimorphisme chromosomique commence depuis la I[e] cinèse de maturation. Il y a pourtant certaines formes, chez lesquelles, pour les hétérochromosomes, la I[e] cinèse est équationnelle et la II[e] réductionnelle. Naturellement cela ne change rien au fait même du dimorphisme des cytes.

D. Interprétation de la réduction numérique par les adversaires de la théorie de l'individualité des chromosomes.

Pour les cytologistes qui nient l'individualité des chromosomes, la question de savoir comment pendant la maturation des cellules sexuelles s'accomplit la réduction du nombre de chromosomes n'existe pas, au moins dans le sens que nous attribuons à ce problème. D'après leur opinion, les chromosomes de la dernière cinèse goniale, en se dissolvant en un réseau nucléaire homogène, perdent, comme dans chaque noyau en repos, leur individualité. A la prophase hétérotypique qui suit, la chromatine du noyau s'organise non pas en un nombre normal d'éléments, mais en un nombre réduit de moitié; — c'est là, dit-on, un fait avec lequel nous devons compter, mais à l'explication duquel il ne faut pas même penser, parce qu'il est *inexplicable*. En d'autres termes, à la I[e] prophase de maturation, il n'y a ni conjugaison, ni copulation de chromosomes homologues, mais formation d'un spirème hétérotypique qui, d'après son origine et d'après sa signification, est identique à n'importe quel spirème somatique, mais se tronçonne en un nombre réduit de segments; de cette façon, la réduction numérique des chromosomes se réalise, dès ce stade, définitivement.

Dans cette interprétation, le duplicisme des éléments de la prophase hétérotypique est complètement homologue au clivage précoce des chromosomes d'un noyau somatique, et il en résulte que la I[e] cinèse de maturation aussi bien que la II[e] séparent non pas des chromosomes entiers, mais de vraies moitiés longitudinales.

Les plus sérieux défenseurs de cette interprétation des processus maturatifs sont à l'heure actuelle Fick, Meves et Duesberg.

Nous nous arrêterons ici brièvement sur les arguments dont ils appuient leur thèse générale, qu'en principe il n'y a pas de différence entre les mitoses de maturation et les mitoses somatiques.

Fick (1907), qui a étudié la transformation du réseau nucléaire en chromosomes hétérotypiques dans le *Tomopteris onisciformis* sur les préparations elles-mêmes qui avaient servi à A. et K. E. Schreiner, pour établir la préréduction après paraconjugaison, a obtenu les résultats suivants. Les aspects, où les parasyndétistes voient une association parallèle de chromosomes, n'ont pas du tout cette portée. L'analyse microscopique lui a montré que le parallélisme des minces filaments chromatiques (leptonèmes) est seulement accidentel ou apparent; qu'il est impossible d'établir

leur nombre et, ce qui est le plus important, qu'un ruban pachytène („ Chromatinbalken -) peut provenir non pas seulement de deux filaments minces, comme l'exige la paraconjugaison, mais de *plusieurs* filaments de ce genre. - Der unbefangene Beobachter wird aus den Präparaten und Bildern, glaube ich, nur den Eindruck gewinnen können, dass sich aus dem chromatischen Netzgewirr an der Polseite des Kernes auf der Grundlage feinster paralleler oder miteinander verflochtener Chromatinfädchen -gespaltene- sich allmählich verdickende Chromatinbalken anlegen. Freilich ist eine solche Balkenbildung aus miteinander verschmelzenden Chromatinfibrillen bisher sonst noch nicht beschrieben. Aber diese Darstellung ist eine einfache Beschreibung der unmittelbaren mikroskopischen Beobachtung, während die Darstellung als eine - *Konjugation vorher selbständiger Chromosomen nur eine unbewiesene und wohl einstweilen unbeweisbare Annahme ist.* — Von diesen Chromatinbalken lässt sich dann *später* nachweisen, dass sie nur in der *halben* Normalzahl vorhanden sind. - (Fick, 1907, p. 64.)

Les parasyndétistes, par la plume de A. et K. E. Schreiner (1908) et Grégoire (1910), n'ont pas laissé sans réponse cette critique et ils insistent avec force sur les points suivants.

1. L'origine des filaments leptotènes aux dépens des chromosomes télophasiques de la dernière cinèse goniale peut être considérée pour beaucoup de formes comme complètement démontrée.

2. La formation de chaque anse pachytène implique la participation non pas de n'importe quel nombre de filaments, mais toujours de *deux* filaments seulement.

L'interprétation de Meves (1907) est un peu différente de celle de Fick. Meves est d'ailleurs un adversaire tout aussi décidé de la théorie de l'individualité des chromosomes et partant de toutes les hypothèses concernant leur conjugaison ou leur copulation. Il prétend que tous les aspects qui sont interprétés par les cytologistes modernes dans le sens de la conjugaison ou de la copulation des filaments chromatiques, ne représentent rien d'autre qu'un clivage très précoce des chromosomes, identique à celui des chromosomes somatiques. D'après Meves, la réduction du nombre de chromosomes à la première prophase de maturation résulte simplement du fait que le spirème du noyau, ayant la même valeur qu'un spirème somatique, au lieu de se couper en un nombre normal de chromosomes, se tronçonne en un nombre égal à la moitié du nombre normal. Chaque élément subit aussitôt une division longitudinale, qui est même déjà préformée dans le spirème. Aucune des deux mitoses de maturation ne dissocie des chromo-

somes entiers, mais toutes les deux séparent des moitiés longitudinales authentiques. En ce qui concerne la réduction de la quantité de chromatine, elle résulte de ce que les deux cinèses de maturation se succèdent rapidement et sans un vrai stade de repos, si bien que les noyaux n'ont pas le temps de doubler leur quantité de chromatine. Dans sa dernière publication sur cette question, MEVES (1911) souligne qu'il s'en tient encore à son ancienne conception de la réduction, c'est-à-dire à une conception indépendante de la théorie de l'individualité des chromosomes et semblable à celle de O. HERTWIG (1890) et de BRAUER (1893) (1).

Quoique MEVES avoue maintenant qu'on ne peut pas nier la possibilité de considérer le duplicisme présenté par les chromosomes au début de la I[e] cinèse méiotique comme n'étant pas homologue de la fente longitudinale des chromosomes somatiques et comme indiquant, au contraire, la présence de deux chromosomes conjugués, néanmoins il reste sceptique à l'égard d'une telle interprétation. « Ich gebe sogar zu, dass dies eine interessante Deutung ist, möchte aber daran festhalten, dass es sich eben um weiter nichts als um eine Deutung handelt. » Un peu plus loin, finissant son mémoire et sa discussion sur l'hypothèse de l'individualité et de la conjugaison des chromosomes, il écrit : « Die Geschlechtszellen bezw. ihre Kerne haben nach meiner Vorstellung (1907), die besondere Eigenschaft ererbt beim Eintritt in die Wachstumsperiode nur die halbe Zahl von Chromosomen auszubilden » (MEVES, 1911, p. 296).
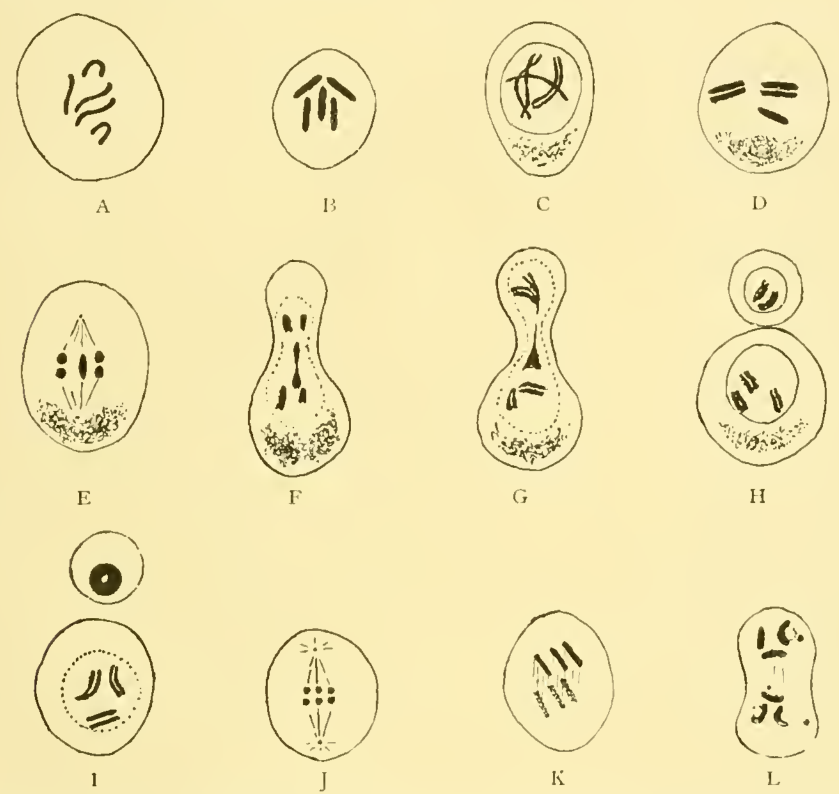
Dans les objets où le nombre de chromosomes somatiques est *pair*, nous trouvons à la première prophase de maturation les chromosomes en nombre réduit et *tous* doubles. A ne considérer que ces aspects, il n'y a rien qui permette de trancher entre nous et MEVES. Car pour lui, comme pour nous, dans le cas d'un nombre pair, *tous* les « chromosomes » doivent, à la diacinèse, montrer deux branches.

Il y a, outre cela, un autre point où ces deux façons de voir sont d'accord. En effet, MEVES (1908) admet actuellement pour certains objets, au début de la première prophase, au moment où les chromosomes se dégagent du réseau, la possibilité de l'apparition de moitiés longitudinales sœurs tout à fait isolées l'une de l'autre, « wirkliche Fädenpaare ».

Mais le cas de l'*Aphis saliceti*, dans lequel le nombre de chromosomes des individus mâles est impair, nous a permis, dès la publication du dernier travail de MEVES (1911), de soumettre à une critique, que nous estimons

(1) Les opinions de O. HERTWIG et de BRAUER sur les phénomènes de maturation des cellules sexuelles n'ont plus à l'heure actuelle qu'un intérêt historique, et nous ne nous y arrêterons pas.

utile de rappeler, l'interprétation de l'auteur, en nous basant principalement sur nos recherches de la spermatogenèse dans cet animal. Dans ce puceron, le sexe mâle se caractérise par un nombre 5 de chromosomes somatiques, et ceux-ci sont tous presque de même taille. Ce sont ces deux circonstances qui nous ont fait espérer de trouver ici dans les structures prophasiques et dans le cours des divisions méiotiques des indications morphologiques très précieuses au sujet de la solution de la question : paraconjugaison et préréduction (GRÉGOIRE, SCHREINER) ou la négation de tout cela, le duplicisme somatique et une simple dissociation des moitiés longitudinales authentiques (MEVES)?



Aphis saliceti. A Cellule somatique d'un embryon mâle. Plaque équatoriale — B—L Quelques stades de la spermatogenèse. — B Spermatogonie. Plaque équatoriale. — C Spermatocyte I. — Prophase I. Deux gémini et un chromosome simple (hétérochromosome). — D Fin de la prophase I. — E Métaphase I. — F, G, H Anaphase I. — I Seconde cinèse de maturation Fin de la prophase II. — J Métaphase II. — K, L Anaphase II.

Pour ceux qui admettent la première façon de voir, le nombre impair de chromosomes (5) dans les spermatogonies ne permet pas de s'attendre à trouver, à la Iᵉ cinèse méiotique, le duplicisme de *tous* les éléments, mais seulement le dualisme des *deux* gémini bivalents; en admettant la seconde voie, au contraire, il faut prévoir à la prophase I la dualité de *tous* les chro-

mosomes *sans exception*. Ici les aspects eux-mêmes de la diacinèse suffisent à trancher, sans compromis possible, entre la conjugaison chromosomique et le caractère équationnel de la dualité chromosomique diacinétique. Au contraire, dans les formes pourvues d'un nombre *pair* de chromosomes somatiques, comme nous l'avons dit plus haut, les deux interprétations peuvent comporter aux mêmes stades de maturation des dualismes semblables de *tous* les éléments et une parfaite ressemblance de structure.

Nous voudrions insister davantage sur ce point, parce que jusqu'à présent certains cytologistes n'apprécient pas suffisamment, à notre avis, l'importance de ces considérations théoriques pour la solution du problème du mécanisme de la réduction.

L'hypothèse de la paraconjugaison et de la préréduction exige que chez l'*Aphis saliceti* les 5 chromosomes somatiques, qui, après la dernière mitose goniale, entrent dans le noyau quiescent, donnent à la première prophase de maturation deux chromosomes doubles bivalents et un simple, univalent. A la première cinèse, qui représente un processus réductionnel, se réaliserait seulement la séparation des chromosomes entiers conjugués à la prophase, et à cause de cela le chromosome simple univalent devrait rester indivis.

Au contraire, l'interprétation de Meves, qui nie l'individualité des chromosomes et leur conjugaison, en affirmant que le duplicisme des éléments hétérotypiques est homologue du simple clivage d'une mitose somatique, demande qu'à la première prophase méiotique les chromosomes qui apparaissent en nombre réduit soient *tous* divisés longitudinalement et qu'ils se comportent à la métaphase et à l'anaphase également *tous* comme dans n'importe quelle division somatique (1).

Voyons maintenant comment ces deux interprétations supportent l'examen, et comment les données morphologiques répondent aux exigences théoriques. Déjà dans notre première publication sur les Aphides en 1908 nous avons démontré que dans la spermatogenèse de l'*Aphis saliceti* la pro-

(1) Si nous exprimons par le chiffre 15 toute la masse chromosomique du noyau spermatogonial, si, en outre, nous tenons compte du fait que tous les cinq chromosomes chez l'*Aphis saliceti* sont presque de la même taille, nous pourrions dire que chaque chromosome spermatogonial vaut 15 : 5, c'est-à-dire 3. Les trois chromosomes qui apparaissent à la 1[e] prophase de maturation au lieu des cinq de la dernière télophase goniale, doivent, selon l'hypothèse de la paraconjugaison, présenter la formule suivante : $(3+3)+(3+3)+3=15$.

Au contraire, la formule la plus simple et la plus vraisemblable pour Meves devrait être, pensons-nous, $5+5+5=15$, c'est-à-dire tous les chromosomes hétérotypiques tout à fait égaux dans leur longueur, leur épaisseur et leur structure (v. notre mémoire de 1912, p. 417).

phase synaptique se caractérise par deux chromosomes doubles et un simple (l'hétérochromosome). Ce dernier ne se divise pas à la métaphase I, mais passe tout entier à un pôle prédestiné. Il en résulte que, sous ce rapport, l'hypothèse de la paraconjugaison et de la préréduction s'accorde bien avec les faits, tandis que la conception de MEVES se montre impuissante à les expliquer.

Dans notre mémoire de 1912, p. 419, nous avons exprimé à ce propos les réflexions suivantes : « Si la prophase et la métaphase de la première mitose de maturation, d'après MEVES, sont homologues des mêmes stades dans les cellules somatiques, si les chromosomes en nombre réduit doivent se comporter comme les chromosomes somatiques en nombre normal, si le duplicisme des éléments chromosomiques à la première prophase doit être considéré comme une fente précoce homologue de celle qu'on trouve dans les prophases somatiques, quand les chromosomes se dégagent du réseau, si tout cela est vrai, pourquoi un des trois chromosomes dans notre objet ne montre-t-il pas, à la première prophase de maturation, une fente longitudinale qui présenterait le *même aspect* que celle des deux autres chromosomes et pourquoi, à la métaphase qui suit, reste-t-il indivis? L'interprétation de MEVES échoue en ce point parce que, en toute hypothèse, MEVES doit accorder à ce petit chromosome la valeur d'*un* chromosome somatique qui se forme aux dépens du réseau après le stade du repos. Au contraire, si nous admettons l'hypothèse de la parasyndèse pseudoréductionnelle avec hétérohoméotypie (GRÉGOIRE), c'est-à-dire que la première cinèse de maturation est une division où des chromosomes entiers se distribuent aux spermatocytes de IIe ordre, la seconde division étant une simple division équationnelle qui dissocie les moitiés longitudinales des chromosomes, tout se trouve en harmonie complète ».

MAKOWLANY, district de Sokolka.
POLOGNE.
Avril 1914.

Ayant été forcé par la guerre de retarder si longtemps la publication du présent mémoire, nous comptions y ajouter un appendice sur tous les travaux importants qui ont paru dans ces derniers temps. Depuis 1914 nous nous sommes trouvé dans des conditions qui rendaient un tel travail tout

à fait impossible, et c'est seulement cette année, dans le laboratoire hospitalier du Professeur Grégoire, que nous avions espéré accomplir cette tâche. Les évènements très graves qui se déroulent maintenant dans notre pays nous forcent cependant à abandonner pour le moment le travail commencé et à quitter Louvain. Nous n'hésitons pas à publier ce mémoire tel qu'il est, parce que l'étude, quoique incomplète, des publications récentes nous permet de croire qu'il n'a pas perdu encore son actualité et qu'au contraire beaucoup de recherches nouvelles confirment nos thèses principales.

Nous profitons de l'occasion pour exprimer notre grande reconnaissance à Monsieur le Professeur Grégoire pour le cordial accueil qu'il nous a fait et le vif intérêt qu'il a porté à notre travail, ainsi que pour son souci de noùs donner des indications précieuses et de nous procurer la littérature nouvelle, si difficile à atteindre dans le temps actuel.

Louvain, Institut de Botanique.
25 juillet 1920.

BIBLIOGRAPHIE.

1911 *Agar, W. E.* : The Spermatogenesis of *Lepidosiren paradoxa;* Quart. Journn. Micros. Sc., vol. 57.

1912 » : Transverse Segmentation and Internal Differentiation of Chromosomes; Quart. Journn. Micros. Sc., vol. 58.

1913 *Armbruster, L.* : Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden *(Osmia cornuta);* Arch. f. Zellforsch., vol. 11.

1908 *Arnold, G.* : The Nucleolus and Microchromosomes in the Spermatogenesis of *Hydrophilus piceus;* Arch. f. Zellforsch., vol. 2.

1907 *Baehr, W. B. (von)* : Ueber die Zahl der Richtungskörper in parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von *Bacillus rossii;* Zool. Jahrb., Anat. Ontog., vol. 24.

1908 » : Ueber die Bildung der Sexualzellen bei Aphididæ; Zool. Anz., vol. 33.

1909 » : Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von *Aphis saliceti*, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse; Arch. f. Zellforsch., vol. 3.

1910 » : Formation des cellules sexuelles et détermination du sexe chez les Aphididæ (en russe); St-Pétersbourg.

1912 » : Contribution à l'étude de la caryocinèse somatique, de la pseudoréduction et de la réduction; La Cellule, vol. 27.

1913 » : Ueber die Bildung der Sexualzellen bei *Saccocirrus major;* Zool. Anz., vol. 43.

1915-1918 » : Ovogenèse dans les générations parthénogenétiques de l'*Aphis palmæ* (en polonais); Ann. de la Soc. d. Amis d. Sciences à Vilno, vol. 6.

1920 » : Recherches sur la maturation des œufs parthénogenétiques dans l'*Aphis palmæ;* La Cellule, vol. XXX, fasc. 2.

1880 *Baranetzky, J.* : Die Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger Tradescantien; Bot. Zeit., vol. 38.

1904 *Berghs, J.* : La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogenèse végétale. I. Depuis le spirème jusqu'aux chromosomes mûrs dans la microsporogenèse d'*Allium fistulosum* et de *Lilium lancifolium (speciosum)*; La Cellule, vol 21.

1904 » : Depuis la sporogonie jusqu'au spirème définitif dans la microsporogenèse de l'*Allium fistulosum*; La Cellule, vol. 21.

1905 *Blackman, B. M.* : The spermatogenesis of *Scolopendra heros*: Bull. Museum Comp. Zool. Harv. Coll., vol. 48.

1887 *Blochmann, J.* : Ueber die Richtungskörper bei Insecteneiern; Morph. Jahrb., vol. 12.

1906 *Bonnevie, K.* : Untersuchungen über Keimzellen : I. Beobachtungen an den Keimzellen von *Enteroxenos östergreni*; Jen. Zeitschr, vol. 41.

1908 » : Chromosomenstudien. II. Heterotypische Mitose als Reifungscharakter. Nach Untersuchungen an *Nereis limbata*, *Thalassema melita* und *Cerebratulus lacteus*; Arch. f. Zellforsch., vol. 2.

1911 » : Chromosomenstudien. III. Chromatinreifung in *Allium cepa*; Arch. f. Zellforsch., vol. 6.

1913 » : Ueber die Struktur und Genese der Ascarischromosomen; Arch. f. Zellforsch., vol. 9.

1913 *Bordas, M.* : Contribution à l'étude de la spermatogenèse dans le *Sagitta bipunctata*; La Cellule, vol. 28.

1887 *Boveri, F.* : Ueber die Befruchtung der Eier von *Ascaris megalocephala*; Sitz.-Ber. d. Gesel. f. Morph. u. Phys., München, vol. 3.

1888 » : Zellenstudien. II. Die Befruchtung und Teilung des Eies von *Ascaris megalocephala*. Jena.

1890 » : Zellenstudien. III. Ueber das Verhalten der chromatischen Kernsubstanz bei der Bildung der Richtungskörper und bei der Befruchtung. Jena.

1904 » : Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes. Jena.

1907 » : Zellenstudien. VI. Die Entwickelung dispermer Eier. Ein Beitrag zur Befruchtungslehre und zur Theorie des Kernes. Jena.

1892 *Brauer, A.* : Zur Kenntnis der Spermatogenese von *Ascaris megalocephala*; Arch. f. mikr. Anat., vol. 42.

1909 *Brunelli, G.* : La spermatogenesi del *Gryllus desertus*; Mem. R. Acc. Lincei, vol. 7.

1910 *Brunelli, G.* : La spermatogenesi della *Tryxallis;* Mem. Soc. ital. Sc., vol. 16.

1909 *Buchner, P.* : Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Oogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion; Arch. f. Zellforsch., vol. 3.

1914 » : Die Besamung der jugendlichen Ovocyte und die Befruchtung bei *Saccocirrus;* Arch. f Zellforsch., vol. 12.

1912 *Chambers, R.* : Egg Maturation, Chromosomes and Spermatogenesis in *Cyclops;* Univ. of Toronto Studies, Biol. Series, N. 14.

1909 *Clemens Müller, H. A.* : Ueber karyokinetische Bilder in der Wurzelspitzen von *Yucca;* Jahrb. wiss. Bot., vol. 47.

1912 » : Kernstudien an Pflanzen; Arch. f. Zellforsch., vol. 8.

1911 *Davis, B. M.* : Cytological Studies on *Œnothera*. III. A Comparison of the Reduktion Divisions of *Œnothera Lamarckiana* and *Œnothera gigas;* Ann. Bot., vol 25.

1908 *Davis, H. S.* : Spermatogenesis in Acrididæ and Locustidæ; Bull. Mus. Comp. Zool. Harv. Coll., vol. 53.

1909 *Debaisieux, P.* : Le début de l'ovogenèse dans le *Dytiscus marginalis;* La Cellule, vol. 25.

1910 *Dehorne, A.* : La valeur des anses pachytènes et le mécanisme de la réduction chez *Sabellaria spinulosa*; Compt. Rend. de l'Acad. d. Sc. Paris. vol. 150.

1911 » : Recherches sur la division de la cellule. I. Le duplicisme constant du chromosome somatique chez *Salamandra maculosa* et *Allium cepa;* Arch. f. Zellforsch., vol. 6.

1911 » : Recherches sur la division de la cellule. II. Homéotypie et hétérotypie chez les Annélides polychètes et les Trématodes; Arch. de Zool. exp. et générale, vol. 9.

1908 *Della Valle P.* : Osservazioni di tetradi in cellule somatiche. Contributo alla conoscenza delle tetradi; Atti d. R. Acc. Sc. fis. e mat. d. Napoli, vol. 13.

1912 *Demoll, R.* : Die Spermatogenese von *Helix pomatia L.* Ein Beitrag zur Kenntnis der Heterochromosomen; Zool. Jahrb., Suppl. 15, vol 2.

1913 » : Ueber Geschlechtsbestimmung im allgemeinen und über die Bestimmung der primären

Sexualcharaktere im besonderen. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Oogenese von *Helix pomatia*; Zool. Jahrb., vol. 33.

1910 *Digby, L.* : The Somatic, Premeiotic and Meiotic Nuclear Divisions of *Galtonia candicans*; Ann. of Bot., vol. 24.

1912 » : The Cytology of *Primula Kewensis* and of other related *Primula* Hybrids; Ann. of Bot., vol. 26.

1914 » : A Critical Study of the Cytology of *Crepis virens*; Arch. f. Zellforsch., vol. 12.

1910-1911 *Doncaster, L.* : Gametogenesis of the Gallfly *Neuroterus lenticularis*. I and II; Proc. Roy. Soc., vol. 82, 83.

1908 *Duesberg, J.* : Les divisions des spermatocytes chez le Rat; Arch. f. Zellforsch., vol. 1

1909 » : Note complémentaire sur la spermatogenèse du Rat; Arch. f Zellforsch., vol. 3.

1898 *Eismond, J.* : Sur la structure des chromosomes; Bibliogr. Anat., vol. 6.

1895 *Farmer, J. B.* : On the Division of the Chromosomes in the first Mitosis in the Pollen Mother Cell of Lilium; Journ. of the Roy. Micr. Soc.

1912 » : Telosynapsis and Parasynapsis; Ann. of Bot., vol. 26.

1903 *Farmer, J. B.*, and *Moore, J. E.* : New Investigations into the Reduction Phenomena of Animals and Plants; Proc. Roy. Soc., vol. 72.

1905 » : On the Maiotic Phase (Reduction Division) in Animals and Plants; Quart. Journ. Micr. Sc., vol. 48.

1905 *Fick, R.* : Betrachtungen über die Chromosomen, ihre Individualität, Reduktion und Vererbung; Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Suppl.

1907 » : Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastard-regeln; Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., vol. 16, 1906.

1911 *Fraser, H. C.*, and *Snell, J.* : The Vegetative Divisions in *Vicia faba*; Ann. of Bot, vol. 25.

1912 *Foot, K.*, and *Strobell, E. C.* : A Study of Chromosomen and Chromatin Nucleoli in *Euschistus crassus*; Arch. f. Zellforsch., vol. 9.

1913 » : Preliminary Note on the Results of Crossing two Hemipterous Species with Reference to the Inheritance of an exclusively Male Cha-

racter and its Bearing on Modern Chromosome Theories; Biol. Bull., vol. 24.

1908 *Gates, R. R.* : A Study of Reduction in *Œnothera rubrinervis*; Bot. Gaz., vol. 46.

1911 » : The Mode of Chromosome Reduction; Bot. Gaz., vol. 51.

1909 *Gerard, P.* : Recherches sur la spermatogenèse chez *Stenobothrus biguttulus;* Arch. de Biol., vol. 24.

1905 *Goldschmidt, R.* : Eireifung Befruchtung und Embryonalentwicklung des *Zoogonus mirus;* Zool. Jahrb., vol. 21.

1906 » : Compte-rendu dans Zool. Centralblatt, vol. 13.

1908 » : Ueber das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des *Dicrocœlium lanceolatum;* Arch. f. Zellforsch., vol. 1

1908 » : Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen?; Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1908 » : Die Chromatinreifung der Geschlechtszellen des *Zoogonus mirus* und der Primärtypus der Reduktion; Arch. f. Zellforsch., vol. 2.

1904 *Grégoire, V.* : La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation; La Cellule, vol. 21.

1905 » : Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes; La Cellule, vol. 22.

1906 » : La structure de l'élément chromosomique au repos et en division dans les cellules végétales (racines d'*Allium);* La Cellule, vol. 23.

1907 » : La formation des gémini hétérotypiques dans les végétaux; La Cellule, vol. 24.

1909 » : La réduction dans le *Zoogonus mirus* et le « Primärtypus »; La Cellule, vol. 25.

1910 » : Les cinèses de maturation dans les deux règnes. L'unité essentielle du processus méiotique; La Cellule, vol 26.

1906 *Grégoire, V.*, et *Deton, W.* : Contribution à l'étude de la spermatogenèse dans l'*Ophryotrocha puerilis;* La Cellule, vol. 23

1903 *Grégoire, V.*, et *Wygaerts, A.* : La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques; La Cellule, vol 21.

1906 *Gross, J.* : Die Spermatogenese von *Pyrrhocoris apterus;* Zool. Jahrb., Anat Ontog, vol. 23.

1895 *Haecker, V.* : Die Vorstadien der Eireifung; Arch. f. mikr. Anat., vol. 45.

1895 *Haecker, V.* : Ueber die Selbständigkeit der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz während der Embryonalentwicklung von *Cyclops brevicornis;* Arch. f. mikr. Anat., vol. 46.

1910 » : Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung; Zeitsch. f. indukt. Abstamm.- und Vererbungslehre, vol 3.

1906 *Hempelmann, F.* : Eibildung, Eireifung und Befruchtung bei *Saccocirrus;* Zool. Anz., vol 30.

1912 » : Die Geschlechtsorgane und -zellen von *Saccocirrus;* Zoologica, vol. 67.

1891 *Henking, H.* : Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insecten. II. Ueber Spermatogenese und deren Beziehung zur Entwicklung bei *Pyrrhocoris apterus;* Zeitschr. f. wiss. Zool., vol. 51.

1890 *Hertwig, O.* : Vergleich der Ei- und Samenbildung bei den Nematoden. Eine Grundlage für celluläre Streitfragen; Arch. f. mikr. Anat., vol. 36.

1901 *Janssens, F. A.* : La spermatogenèse chez les Tritons; La Cellule, vol. 19.

1905 » : L'évolution des auxocytes mâles des *Batrachoseps attenuatus;* La Cellule, vol. 21.

1909 » : La théorie de la Chiasmatypie Nouvelle interprétation des cinèses de maturation; La Cellule, vol. 25.

1908 *Janssens, F. A.*, et *Willems, J.* : Spermatogenèse dans les Batraciens. IV. La spermatogenèse dans l'*Alytes obstetricans;* La Cellule, vol. 25.

1911 *Jordan, H. E.* : The Spermatogenesis of the Opossum *(Didelphys virginiana)* with the special Reference of the Accessory Chromosome and the Chondriosomes; Arch. f. Zellforsch., vol 7

1913 *Kemnitz, G. A. (von)* : Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von *Brachycœlium salamandræ;* Arch. f Zellforsch., vol 10

1895 *Korschelt, E.* : Ueber Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei *Ophryotrocha puerilis;* Zeitsch. f. wiss. Zool., vol. 60.

1903 *Korschelt, E*, und *Heider, K.* : Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Allgemeiner Teil. Jena.

1910 *Krimmel, O.* : Chromosomenverhältnisse in generativen und somatischen Mitosen bei *Diaptomus cœruleus;* Zool. Anz., vol 35.

1908 *Kühn, A.* : Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren; Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1913 *Kuschakewitsch, S.* : Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchia; Arch. f. Zellforsch., vol. 10.

1907 *Laibach, F.* : Zur Frage nach der Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Beih. Bot Centralbl., vol. 22.

1908 *Lams, H.* : Les divisions des spermatocytes chez la Fourmi *(Camponotus herculaneus);* Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1912 *Lawson, A. A.* : A Study in Chromosome Reduction; Transact. of the Royal Soc. of Edinburgh, vol. 48.

1902 *Lerat, P.* : La première cinèse de maturation dans l'ovogenèse et la spermatogenèse du *Cyclops strenuus;* Anat. Anz, vol. 21.

1905 » : Les phénomènes de maturation dans l'ovogenèse et la spermatogenèse du *Cyclops strenuus*; La Cellule, vol. 22.

1912 *Litardière, R. (de)* : Formation des chromosomes hétérotypiques chez *Polypodium vulgare;* Compt. Rend de l'Ac. d. Sc. Paris, vol. 155.

1906 *Marcus, H.* : Ei- und Samenreife bei *Ascaris canis;* Arch. f. mikr. Anat., vol 68.

1905 *Maréchal, J.* : Ueber die morphologische Entwicklung der Chromosomen im Teleostierei (mit einem Zusatz über das Ovarialei von *Amphioxus lanceolatus* und *Ciona intestinalis;* Anat. Anz, vol. 26.

1907 » : Sur l'ovogenèse des Sélaciens et de quelques autres chordates. Premier mémoire : Morphologie de l'élément chromosomique dans l'ovocyte I chez les sélaciens, les téléostéens, les tuniciers et l'*Amphioxus;* La Cellule, vol. 24.

1900 *Mc Clung, C. E.* : The Spermatocyte Divisions of the Acrididæ; Bull. Univ. Kansas.

1902 » : The Spermatocyte Divisions of the Locustidæ; Kansas Univ. Sc. Bull., vol. 1.

1905 » : The Chromosome Complex of Orthopteran Spermatocytes; Biol. Bull., vol. 9.

1903 *Meves, F.* : Ueber « Richtungskörperbildung » im Hoden von Hymenopteren; Anat. Anz, vol. 24.

1907 » : Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene; Arch. f. mikr. Anat., vol. 72.

1908 » : Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen! ; Arch. f. Zellforsch., vol. 1.

1911 » : Chromosomenlängen bei Salamandra nebst Bemerkungen zur Individualitätstheorie der Chromosomen; Arch. f. mikr. Anat., vol. 77.

1908 *Meves, F.*, und *Duesberg, J.* : Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse *(Vespa crabro)*; Arch. f. mikr. Anat, vol. 71.

1905 *Miyake, K.* : Ueber Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen; Jahrb. f. wiss. Bot., vol. 42.

1907 *Mottier, D. M.* : The Development of the Heterotypic Chromosomes in Pollen Mothercells; Ann. of Bot., vol. 21.

1909 » : On the Prophases of the Heterotypic Mitosis in the Embryosac Mothercells of Lilium; Ann. of Bot., vol. 23.

1913 *Mottier, D. M.*, and *Nothnagel* : The prophase of the heterotypic mitosis in Allium; Torrey Botanical Club.

1900 *Montgomery, F. H* : The Spermatogenesis of *Peripatus (Peripatopsis) balfouri* up to the Formation of the Spermatid; Zool. Jahrb, Anat. Ontog., vol. 14.

1901 » : A Study of the Chromosomes of the Germ Cells of Metazoa; Trans. Amer. Phil. Soc., vol. 20.

1904 » : Some Observations and Considerations upon the Maturation Phenomena of the Germ Cells; Biol. Bull., vol. 6.

1905 » : The Spermatogenesis of *Syrbula* and *Lycosa*, with General Considerations upon Chromosome Reduction and the Heterochromosomes; Proc of Acad. of Nat. Sc. Philadelphia, vol. 57.

1906 » : Chromosomes in the Spermatogenesis of the Hemiptera heteroptera; Trans. Amer. Phil. Soc., vol. 21.

1909 » : On Morphological Difference of the Chromosomes of *Ascaris megalocephala*; Arch. f. Zellforsch., vol. 2.

1911 » : The Spermatogenesis of an Hemipteron, *Euschistus*; Journ. of Morphol., vol. 22.

1895 *Moore, J. E.* : On the Structural Changes in the Reproductive Cells during the Spermatogenesis of the Elasmobranchs; Quart. Journ. Micr. Sc., vol. 38.

1906 *Moore, J. E.*, and *Embleton, A. L.* : On the Synapsis in Amphibia; Proc. Roy. Soc., vol. 77.

1911 *Morgan, F. H.* : An Attempt to analyze the Constitution of the Chromosomes on the Basis of Sex-limited Inheritance in *Drosophila*; Journ. Exp. Zool., vol. 11.

1913 » : Heredity and Sex. New-York.

1909 *Morse, M.* : The Nuclear Components of the Sex Cells of four Species of Cockroaches; Arch. f. Zellforsch., vol. 3.

1905 *Overton, J. B.* : IV. Ueber Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen; Pringsh. Jahrb. wiss. Bot., vol. 42.

1909 » : On the Organization of the Nuclei in the Pollen Mothercells of Certain Plants, with Especial Reference to the Permanence of the Chromosomes; Ann. of Bot., vol. 23.

1901 *Petrunkewitsch, A.* : Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienenei; Zool. Jahrb., Anat. Ontog., vol. 14.

1908 *Pinney, E* : Organization of the Chromosomes *Phrynotettix magnus*; Kans. Univ. Sc. Bull., vol 4.

1907 *Popoff, M.* : Eibildung bei *Paludina vivipara* und Chromidien bei *Paludina* und *Helix*; Arch. f. mikr. Anat., vol. 70.

1908 » : Ueber das Vorhandensein von Tetraden-Chromosomen in den Leberzellen von *Paludina vivipara*; Biol. Centralbl., vol. 28.

1892 *Rath, O. (vom)* : Zur Kenntnis der Spermatogenese von *Gryllotalpa vulgaris*; Arch. f. mikr. Anat., vol. 40.

1895 » : Neue Beiträge zur Frage der Chromatinreduktion und der Samen- und Eireife; Arch. f. mikr. Anat., vol. 46.

1908 *Robertson, W. R.* : The Chromosome Complex of *Syrbula admirabilis*; Kans. Univ. Sc. Bull., vol. 4.

1904 *Rosenberg, O.* : Ueber die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich; Flora, vol. 93.

1905 » : Zur Kenntnis der Reduktionsteilung in Pflanzen; Botaniska Notiser.

1907 *Rosenberg*, *O.* : Zur Kenntnis der praesynaptischen Entwicklungsphasen der Reduktionsteilung; Sv. Bot. Tids., vol. 1.

1909 » : Ueber den Bau des Ruhekerns; Sv. Bot. Tids., vol. 3.

1909 » : Cytologische und morphologische Studien an *Drosera longifolia* × *rotundifolia;* Kungl. Svenska Vetenskaps. Akad. Handl., vol. 44.

1894 *Rückert*, *J.* : Zur Eireifung bei Copepoden; Anat. Hefte, vol. 4.

1894 » : Die Chromatinreduktion bei der Reifung der Sexualzellen; Ergebn. d Anat. u Entwickl. Gesch., vol. 3.

1911 *Schellenberg*, *A.* : Ovogenese, Eireifung und Befruchtung von *Fasciola hepatica;* Arch. f. Zellforsch., vol. 6.

1906 *Schleip*, *W.* : Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von *Planaria gonocephala;* Zool. Jahrb , Anat., vol 23.

1907 » : Die Samenreifung bei den Planarien; Zool. Jahrb., Anat., vol. 24.

1909 » : Vergleichende Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden; Arch. f. Zellforsch., vol. 2.

1912 *Schmalz*, *J.* : Zur Kenntnis der Spermatogenese der Ostracoden; Arch. f. Zellforsch., vol. 8.

1910 *Schneider*, *K. C.* : Histologische Mitteilungen 3. Chromosomengenese; Festschrift f. R Hertwig. Jena.

1904 *Schreiner*, *A.*, u. *K. E.* : Die Reifungsteilungen bei den Wirbeltieren. Ein Beitrag zur Frage nach der Chromatinreduktion; Anat. Anz , vol. 24.

1906 » : Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von *Tomopteris onisciformis*. II. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra maculosa*, *Spinax niger* und *Myxine glutinosa*; Arch. de Biol., vol. 22.

1906 » : Neue Studien über Chromatinreifung der Geschlechtszellen. III. Die Reifung der Geschlechtszellen von *Ophryotrocha puerilis;* Anat. Anz., vol. 29.

1907 » : Neue Studien über Chromatinreifung der Geschlechtszellen. IV. Die Reifung der Geschlechtszellen von *Enteroxenos œstergreni;* Vidensk. Selsk. Skrifter.

1908 *Schreiner, A.*, u. *K. E.* : Gibt es eine parallele Konjugation der Chromosomen?; Vidensk. Selsk. Skrifter.

1908 » : Neue Studien über Chromatinreifung der Geschlechtszellen. V. Die Reifung der Geschlechtszellen von *Zoogonus mirus;* Vidensk. Selsk. Skrifter.

1908 *Shibata, K.*, und *Miyake, K.* : Ueber Parthenogenesis bei *Houttuynia cordata;* Botan. Magaz., Tokyo, vol. 22.

1910 *Soós, L.* : Spermiogenesis of *Helix arbustorum;* Ann. Mus. Nat. Hung., vol. 8.

1905 *Stevens, N. M.* : Study of the Germ Cells of *Aphis rosæ* und *Aphis œnotheræ;* Journ. Exper. Zool., vol. 2.

1905 » : Studies in Spermatogenesis; Carnegie Inst., Washington, publ. 36.

1906 » : Studies in the Germ Cells of Aphids; Carnegie Inst. Washington.

1908 » : A Study of the Germ Cells of certain Diptera, with Reference to the Heterochromosomes and the Phenomena of Synapsis; Journ. Exper. Zool., vol. 5.

1904 *Strasburger, E.* : Ueber Reduktionsteilung; Sitzungsber. Koenigl. Preuss. Akad. Wiss., vol. 18.

1905 » : Typische und allotypische Kernteilung; Jahrb. f. wiss. Bot., vol. 42.

1909 » : Histologische Beiträge. VIII. Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Jena.

1902 *Sutton, W. S.* : On the Morphology of the Chromosome Group in *Brachystola magna;* Biol. Bull., vol. 4.

1907 *Tannreuther, G. W.* : History of the Germ Cells and early Embryologie of certain Aphids; Zool. Jahrb., Anat. Ontog., vol. 24.

1906 *Tischler G.* : Ueber die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei Ribes-Hybriden; Jahrb. wiss. Bot., vol. 42.

1906 » : Ueber die Entwicklung der Sexualorgane bei einem sterilen Bryonia-Bastard; Ber. deut. bot. Gesell. Berlin, vol. 24.

1883 *Van Beneden, E.* : Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire; Arch. de Biol., vol. 4.

1905 *Van Gaver, F.*, et *Stephan, P.* : Intervention des spermatozoïdes dans l'ovogenèse chez *Saccocirrus papillocercus;* Compt. Rend. Soc. Biol. Paris, vol. 61.

1907 *Van Gaver, F.*, et *Stephan, P.* : A propos de l'ovogenèse de *Saccocirrus papillocercus*; Compt. Rend. Soc. Biol., Paris, vol. 62.

1907 *Vejdovsky, F.* : Neue Untersuchungen über Reifung und Befruchtung; Königl. Böhm. Gesellsch d. Wiss , Prag.

1911-19112 » : Zum Problem der Vererbungsträger; Köningl. Böhm. Gesellsch. d. Wiss. Prag.

1913 *Wassermann, F.* : Die Oogenese des *Zoogonus mirus;* Arch. f. mikr. Anat , vol. 83.

1907 *Wassilieff, A.* : Die Spermatogenese von *Blatta germanica;* Arch. f. mikr. Anat., vol. 70.

1887 *Weismann, A.* : Ueber die Zahl der Richtungskörper und ihre Bedeutung für die Vererbung. Jena.

1905 *Wilson, E. B.* : Studies on Chromosomes. I. The Behavior of the Idiochromosomes in Hemiptera; Journ. Exp. Zool., vol. 2.

1905 » : Studies on Chromosomes. II. The Paired Microchromosomes, Idiochromosomes and Heterotropic Chromosomes in Hemiptera; Journ Exper. Zool., vol. 2.

1906 » : Studies on Chromosomes. III. The Sexual Differences of the Chromosome Groups in Hemiptera, with some Considerations on the Determination and Inheritance of Sex; Journ. Exper. Zool., vol. 3

1909 » : Studies on Chromosomes. IV. The « Accessory » Chromosome in *Syromastes* and *Pyrrochoris* with a Comparative Review of the Types of Sexual Differences of the Chromosome Groups; Journ. Exper. Zool., vol. 6.

1912 » : Studies on Chromosomes. VIII. Observations on the Maturation Phenomena in certain Hemiptera and other Forms with Considerations on Synapsis and Reduction; Journ. Exper. Zool., vol. 13.

1901 *Winiwarter, H. (von)* : Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme); Arch. de Biol., vol. 17.

1909 *Winiwarter, H. (von)*, et *Sainmont, G.* : Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire de Mammifères (Chat); Arch. de Biol., vol. 24.

1908 *Yamanouchi, S.* : Sporogenesis in *Nephrodium;* Bot. Gaz , vol. 45

1910 » : Chromosomes in *Osmunda;* Bot. Gaz., vol. 49

EXPLICATION DES FIGURES.

Toutes les figures ont été dessinées à l'aide de l'appareil ABBÉ.

FIG. **43—51**, FIG. **63—65**, ZEISS *apochr. d. f.* 2 *mm.*, *ap. num.* 1.30 *ou* 1,40, *oc. comp.* 6 ; *toutes les autres figures, les mêmes object.*, *oc. comp.* 8.

FIG. **1.** Spermatogonie au repos. FLEMMING. Hémat. ferr

FIG. **2.** Spermatogonie en division. Métaphase. Plaque équatoriale observée du pôle. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **3.** Spermatogonie en division Plaque équatoriale. Vue de face. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **4.** Spermatogonie en division. Anaphase. Vue de face. FLEM Hém ferr.

FIG. **5.** Spermatocyte de Ir ordre. Début de la prophase synaptique Carmin acétique de A. SCHNEIDER.

FIG. **6.** Spermatocyte de Ir ordre. Stade leptotène. Carm. acét. SCHN.

FIG. **7.** Spermatocyte de Ir ordre. Stade leptozygotène Carm acét. SCHN.

FIG. **8-9.** Spermatocytes de Ir ordre. Stade pachytène. Carm. acét. SCHN.

FIG. **10-11.** Spermatocytes de Ir ordre. Stade pachytène déroulé. Carm. acét. SCHN.

FIG. **12.** Spermatocyte de Ir ordre Stade de grand métabolisme. Carm. acét. SCHN.

FIG. **13-14.** Spermatocytes de Ir ordre. Après le stade de grand métabolisme. Stade strepsitène. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **15-16.** Spermatocytes de Ir ordre Diacinèse. Carm. acét. SCHN.

FIG. **17.** Spermatocyte de Ir ordre. Diacinèse. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **18.** Spermatocyte de Ir ordre. Métaphase. Vue de face. FLEM Hém. ferr.

FIG. **19.** Spermatocyte de Ir ordre. Métaphase. Vue de face. HERTWIG. Hém. ferr.

FIG. **20-21.** Deux coupes du même spermatocyte de Ir ordre. Métaphase. Vue de face. HERTW. Brasiline.

FIG. **22.** Spermatocyte de Ir ordre. Plaque équatoriale. Vue polaire. HERTW Hém. ferr.

FIG. **23.** Spermatocyte de Ir ordre. Anaphase. HERTW. Hém. ferr.

FIG. **24.** Spermatocyte de Ir ordre. Télophase. FLEM Hém. ferr.

FIG **25.** Spermatide de IIe ordre. Intercinèse FLEM Hém. ferr.

FIG. **26-27.** Spermatocytes de IIe ordre Métaphase. Vue de face. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **28**. Spermatocyte de IIe ordre. Télophase. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **29**. Spermatide. FLEM. Hém. ferr.

FIG. **30-32**. Spermiogenèse. Subl. acét. BIONDI-triacide.

FIG. **33-36**. Spermiogenèse. Stades plus avancés. Subl acét. Hém ferr.

FIG. **37**. Spermatozoïdes dans le réceptaculum d'une femelle. On voit la structure double des queues des spermatozoïdes coupées par le rasoir en tronçons. Subl. acét Hém. ferr.

FIG. **38**. Changements de forme des spermatozoïdes dans les oocytes après la période d'accroissement de ces derniers HERTW. Hém. ferr. ou Brasil.

FIG. **39**. Oocytes de Ir ordre. Stade lepto-zygotène. HERTW. Bras.

FIG **40**. Oocyte de Ir ordre. Stade pachytène. HERTW. Bras.

FIG. **41**. Oocyte de Ir ordre. Stade pachytène déroulé. HERTW. Bras.

FIG. **42-48** Oocytes de Ir orde. Période d'accroissement. Subl. acét. Hém ferr.

FIG. **49**. Oocyte de Ir ordre. Période d'accroissement. Nucléole vacuolisé. Subl. acét. Triple col. d'EHRLICH.

FIG. **50**. Oocyte de Ir ordre. Fin de la période d'accroissement. Chaque géminus entouré d'un grumeau de caryoplasme HERTW Bras.

FIG. **51**. Oocyte de Ir ordre. Fin de la période d'accroissement. Chromosomes au centre de l'oocyte entourés de caryoplasme. HERTW. Bras.

FIG. **52-55**. Fin de la Ir prophase polaire. Chromosomes fixés sur un grumeau caryoplasmatique commun. HERTW. Bras.

FIG **56-57**. Oocytes de Ir ordre. Métaphase I. HERTW. Hém. ferr.

FIG. **58**. Oocyte de Ir ordre. Commencement de l'anaphase I. Subl acét. Hém. ferr.

FIG. **59**. Oocyte de IIe ordre. Prophase. HERTW Hém ferr.

FIG. **60**. Oocyte de IIe ordre. Métaphase. Subl. acét. Hém. ferr.

FIG. **61**. Télophase II. Subl. acét Hém ferr.

FIG. **62**. Œuf mûr. Pronucleus femelle reconstruit. Subl. acét. Hém. ferr.

FIG. **63**. Œuf mûr. Deux pronuclei. HERTW. Bras

FIG. **64** Œuf mûr (ovaire). Fusionnement des pronuclei HERTW Bras.

FIG. **65**. Œuf mûr (ovaire). Syncaryon. Subl. acét Hém. ferr.

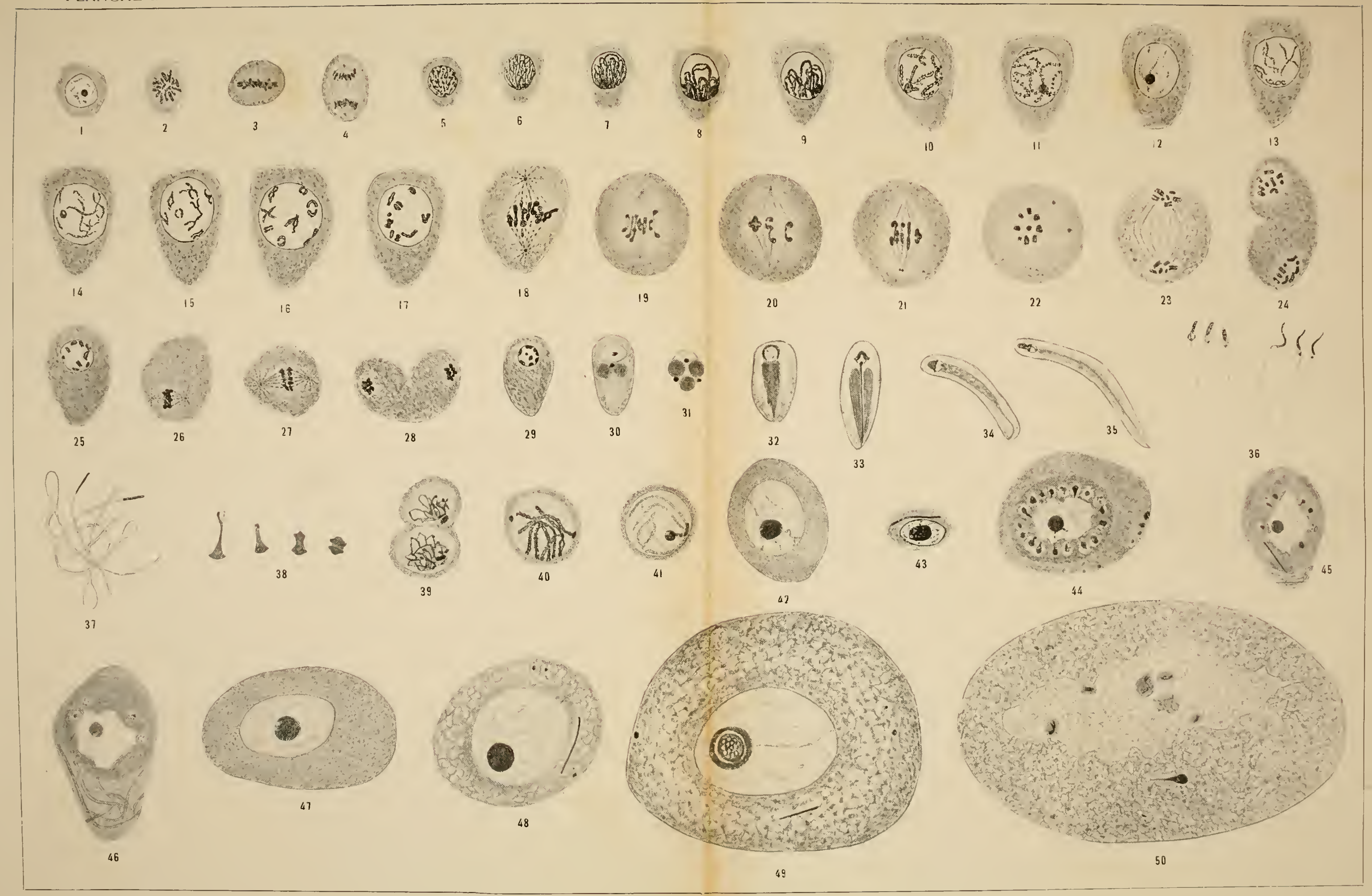
FIG **66** Œuf mûr (cœlome) Syncaryon HERTW. Bras.

FIG. **67**. Œuf mûr cœlome). Formation du premier fuseau de segmentation On voit aussi une enclave plasmatique HERTW. Bras.

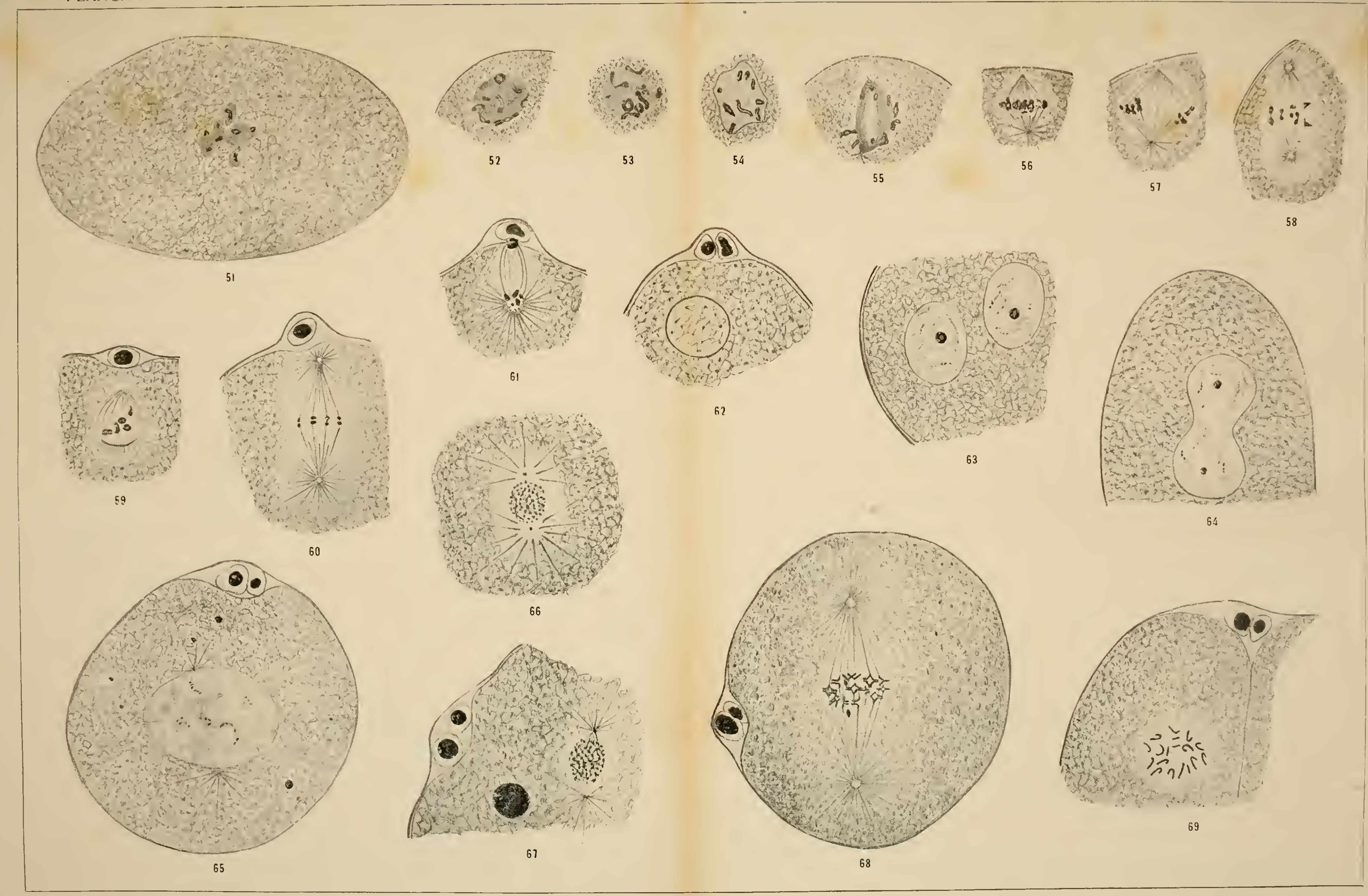
FIG. **68**. Première cinèse de segmentation. Métaphase Subl acét. Hém. ferr.

FIG. **69**. Anaphase d'une cinèse de segmentation. Vue polaire. Subl acét Hém. ferr.

TABLE DES MATIÈRES.



V. B. de Baehr ad nat. del.



V. B. de Baehr ad nat. del.

TABLE DES MATIÈRES DU TOME XXX

